

Quartz-Seq2：ヒト細胞アトラス時代の 高精度 1 細胞 RNA シーケンス法

二階堂 愛
Itoshi Nikaido

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 ゲノム応用医学部門 ゲノム機能情報分野
理化学研究所 生命機能科学研究センター バイオインフォマティクス研究開発チーム
✉ itoshi.nikaido@riken.jp

はじめに

再生医療では、利用する細胞の有効性や安全性を示す必要がある。細胞の有効性や安全性を担保する方法の一つは、細胞機能が目的細胞とどのくらい似ているのかを示すことである。しかし、細胞機能は多岐にわたり、細胞種類によって確認すべき機能が異なる。特に複数の細胞が夾雑する不均一性を計測しようとするれば、細胞を一つずつ調べなければならない。

その方法として、1 細胞 RNA シーケンス法 (scRNA-seq) が挙げられる。現在、この方法でヒトのあらゆる臓器に含まれるすべての細胞種を解析し、データベース化するヒト細胞アトラス計画 (Human Cell Atlas ; HCA)¹⁾ が進行している。ヒトの正常細胞のデータが蓄積されれば、再生医療で使う細胞を作製する際に、どのような細胞状態を目指せばよいのか指針となるだろう。

しかし、scRNA-seq は様々な種類がある。国際共同プロジェクトで各国が分担してデータを収集するには、それらの特性を定量的に理解しておく必要がある。そのためには、各国の開発者や開発企業が、全く同じサンプルを対象に、各手法で実験を実施し、全く同じデータを解析する手法で公平に比較する研究が必要である。本稿では、HCA で行われた 1 細胞 RNA-seq 法の性能比較研究について紹介する。

1 細胞 RNA-seq 法の国際的な性能評価研究

scRNA-seq は、その細胞採取法や核酸増幅法などの違いにより複数の方法が提案されている。そこでスペインの Holger Heyn 博士を中心となり、世界中の 1 細胞 RNA-seq 法開発チームが参加した国際的ベンチマーク研究が実施された²⁾。ドイツ、スウェーデン、イギリス、アメリカ、日本などの 25 の研究機関・企業の国際共同研究チームで実施された。また、このベンチマーキングには、主要な 13 手法の開発者や開発企業、実験施設などのチームが参加した。日本からは我々のチームが唯一参加している。

まず、Heyn らは複数の細胞種を一定の比率で混合した細胞の混合液を作製し、これを複数の容器に等分し、世界中の開発者、開発企業に凍結して輸送した (図 1)。各参加者は、それぞれの手法で 1 細胞 RNA-seq 法を実施し、その未加工のデータをスペインの Heyn らに送り返した。そして Heyn らは集められたデータを用いて、①検出した遺伝子数、②細胞特異的のマーカ―遺伝子検出、③細胞の分類のしやすさ、④細胞型の同定、⑤統合後の細胞分類のしやすさ、⑥他手法との統合のしやすさの 6 項目の性能を定量化した。これにより、全く同じ検体で、全く同じデータ解析手法で、公平にその性能を比較できるデータが揃えることができた。細胞の凍結輸送などは実際の研究で行われるプロセス