

講演番号：3E095

発表日時：3月6日 13:15~14:15、発表場所：ポスター発表会場エリア E

低インプット細菌 RNA-seq を用いた大腸菌の遺伝子発現動態解析

Gene expression dynamics of *E.coli* using low-input bacterial RNA-seq

○西村 美郁<sup>1,2</sup>、高橋 一樹<sup>3</sup>、相川 香織<sup>3</sup>、林 哲太郎<sup>4</sup>、久世 真理子<sup>4</sup>、二階堂 愛<sup>4,5</sup>、竹山 春子<sup>1,2,3,6</sup>、細川 正人<sup>1,2,3,6</sup> (1 早大院・先進理工、2 産総研・早大 CBBB-OIL、3 早大・ナノライフ創新研、4 理研 BDR、5 東京医科歯科大・難治疾患研、6 早大・生命動態研)

○Mika NISHIMURA<sup>1,2</sup>, Kazuki TAKAHASHI<sup>3</sup>, Kaori AIKAWA<sup>3</sup>, Tetsutaro HAYASHI<sup>4</sup>, Mariko KUSE<sup>4</sup>, Itoshi NIKAI<sup>4,5</sup>, Haruko TAKEYAMA<sup>1,2,3,6</sup>, Masahito HOSOKAWA<sup>1,2,3,6</sup> (1 Grad. Sch. Adv. Sci. Eng., Waseda Univ., 2 CBBB-OIL, AIST-Waseda Univ., 3 Res. Org. Nano Life Innov., Waseda Univ., 4 RIKEN BDR, 5 Med. Res. Inst., Tokyo Med. and Dent. Univ., 6 Inst. Adv. Res. Biosyst. Dynam., Waseda Res. Inst. Sci. Eng., Waseda Univ.)

細菌培養中の遺伝子発現動態の把握は、増殖や物質生産における細菌集団の挙動を理解し制御する上で重要である。バルク RNA-seq は遺伝子発現を網羅的に解析する強力な手法だが、従来法では 10<sup>6</sup> 細胞以上の RNA 抽出を要し、多試料処理におけるコストと効率性に課題があった。細菌培養の全過程を高時間分解能で追跡するには、低インプット・多試料に適合した技術的革新が不可欠である。

本研究では、我々が開発した高感度な細菌 1 細胞 RNA-seq 技術 (Nishimura et al., *J. Biosci. Bioeng.*, 2023) を基盤として、多試料解析に適した低インプット RNA-seq 法を確立した。本法では、1000 細胞相当の細菌培養液から直接的に cDNA 増幅とシーケンスを実行する。本手法を用いて、大腸菌の増殖過程における遺伝子発現を 10 分間隔で 8 時間追跡し、代謝、運動性、ストレス応答に関与する遺伝子群の特徴的な発現パターンを同定した。さらには、大腸菌以外の菌種への本手法の拡張を進めている。本技術は細菌の生理学的理解を深め、バイオものづくりなどの産業応用に貢献することが期待される。

Understanding gene expression dynamics during bacterial cultivation is crucial for controlling bacterial population behavior in growth and material production. While bulk RNA-seq is a powerful method for comprehensive gene expression analysis, conventional approaches require RNA extraction from more than 10<sup>6</sup> cells and are challenged by the cost and efficiency for multiple sample processing. Technical innovation compatible with low-input and high-throughput RNA-seq was essential for tracking the entire bacterial cultivation process with high temporal resolution.

In this study, we established a low-input RNA-seq method suitable for multiple sample analysis based on our previously developed highly sensitive single-cell bacterial RNA-seq technology (Nishimura et al., *J. Biosci. Bioeng.*, 2023). This method enables direct cDNA amplification and sequencing from bacterial cultures equivalent to 1,000 cells. Using this method, we tracked gene expression during *E. coli* growth at 10-minute intervals over 8 hours, identifying characteristic expression patterns of genes involved in metabolism, motility, and stress response. Furthermore, we are expanding this method to other bacterial species beyond *E. coli*. This technology is expected to deepen our physiological understanding of bacteria and contribute to industrial applications such as biomanufacturing.

bacteria, RNA-seq, time-course analysis

発表責任者：細川正人 (masahosokawa@aoni.waseda.jp)