

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2015～2019

課題番号：15KT0075

研究課題名(和文) 遺伝子発現ゆらぎの適応的意義 - ゆらぎと遺伝性の構成による理解

研究課題名(英文) Understanding adaptive roles of gene expression noise by manipulating noise and heredity levels

研究代表者

若本 祐一 (Wakamoto, Yuichi)

東京大学・大学院総合文化研究科・准教授

研究者番号：30517884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：バクテリアのクローン細胞集団が示す適応現象には、数世代の時間スケールで起こるパーシスタンス現象や、数十から数百世代を通じて起こる長期適応が存在する。本研究課題では、生存に関わる遺伝子の発現ゆらぎの統計的性質を改変した大腸菌細胞株を作製し、その薬剤応答を、独自の1細胞計測技術で詳細に解析した。さらに、細胞系譜と発現ゆらぎの情報から、適応度地形や選択強度を定量評価する解析フレームワークを構築した。これらを用いた実験により、パーシスタンス現象では一つの細胞集団内に複数の生存モードが共存すること、長期的な薬剤に対する適応がグローバルな発現状態のリモデリングによって生じることなどを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の成果により、遺伝子発現のゆらぎの統計的性質が細胞集団の適応応答の関係すること、一方で、長期的に起こる適応応答は、生存関連因子の発現量の大小にほとんど依存せず発生することが明らかになった。これらの結果から、短い時間スケールで起こる適応では局所的な応答が重要な役割を果たす一方、生存細胞の中ではより安定な適応を実現するグローバルな状態変化が長い時間をかけて起こることが明らかになった。また、同一集団内で複数の生存モード、発現状態が観察されたことから、従来の集団計測の限界と1細胞時系列解析の重要性を明らかにした。これらの成果は、細菌の耐性獲得の抑制手法の確立にもつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The adaptation phenomena of bacterial clonal cell populations include persistence, which occurs on the timescale of several generations, and long-term adaptation that occurs over tens to hundreds of generations. In this research project, we constructed *E. coli* cell strains with altered statistical properties of expression noise of survival-correlated genes. We then analyzed their drug response in detail using our unique single-cell measurement technology. We also constructed an analytical framework for quantitative evaluation of fitness landscape and selection strength based on the information of cell lineage trees and expression fluctuation. From these experiments, we revealed that multiple survival modes coexist in bacterial persistence and that long-term adaptation to drugs occurs through the remodeling of global gene expression state.

研究分野：1細胞生物物理学

キーワード：遺伝子発現ゆらぎ パーシスタンス 薬剤耐性

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

バクテリアなどのクローン細胞集団に抗生物質などの強いストレスを与えると、一部の細胞が遺伝子変異なしに耐性を獲得し長期間生き残る「パーシスタンス」という現象が一般的に生じる。研究代表者は以前の研究において、抗生物質イソニアジド (INH) に対する *Mycobacterium smegmatis* のパーシスタンス現象の1細胞解析を行い、このパーシスタンス現象では、INHの活性化に関わる酵素である KatG がこの菌の細胞内で確率的に発現することで1細胞ごとの適応度に差が生じ、結果として一部の細胞が長期間生き残り続けることを明らかにしていた[1]。この結果は、薬剤投与前からクローン細胞集団内に存在するドーマント細胞が生き残ることによってパーシスタンス現象が引き起こされる、とする従来の定説に反するものであり、また、細胞内で生存に関係する遺伝子の発現ゆらぎの統計的性質が、薬剤に対する集団の生き残り (パーシスタンス効率) に影響を与えることを示唆するものであった。

バクテリアの薬剤耐性現象においては、パーシスタンスのように表現型レベルのみで達成され、数世代という短い時間スケールで起こるものだけでなく、耐性を安定に子孫細胞に伝承する、より長い世代を通じて達成される耐性獲得現象も詳しく調べられている[2]-[4]。前者の現象では、生き残った細胞は、薬剤を取り除くと元と同じく薬剤に対して感受性を持つ集団を速やかに再形成する。つまり、パーシスタンス現象は短い時間スケールで起こる可逆的な適応現象である。一方、長期的な薬剤耐性現象では、薬剤が取り除かれた後であっても耐性が必ずしも失われず、再度同じ薬剤に晒されても耐性を継続して示しうる。これは、パーシスタンスよりも長い時間スケールで起こる、より不可逆的な適応現象と言える。これら適応現象において、1細胞レベルではどのような適応ダイナミクスが存在するのか？また、異なる時間スケールで起こる適応現象は、お互いにどのように関係しているのか？以上の問題は未解決課題として残されている。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、遺伝子発現ゆらぎの統計的性質と薬剤耐性現象の関係を明らかにするとともに、異なる時間スケールで起こる細胞集団の適応現象の間関係性についても迫るため、以下の具体的課題を達成することを目指した。

- その発現量の差が適応度と相関する遺伝子の同一クローン細胞集団内での発現のゆらぎ幅、時間相関の性質を人工的に改変したモデル大腸菌ライブラリの構築
- 1細胞動態の詳細観察を実現する新たな計測技術の開発
- 1細胞計測により得られるデータをもとに、遺伝子発現量の違いに基づく適応度差や集団内の選択強度を定量する解析手法の確立
- 構築した細胞株や計測技術を用いた、パーシスタンス現象の中で起こる1細胞レベルの動態解明
- 構築した細胞株や計測技術を用いた、薬剤に対する長期適応現象の理解と背景原理の解明

### 3. 研究の方法

(1) 薬剤環境下において、生存に影響を与えると考えられる薬剤耐性遺伝子を大腸菌に導入し、その発現に関わる複数のパラメータを変えることで、発現ゆらぎの統計的性質の改変を行なった。導入した薬剤耐性遺伝子は、蛍光タンパク質との融合タンパク質として発現するようにデザインし、その発現量を1細胞レベルで定量できるようにした。具体的には、ストレプトマイシン耐性遺伝子およびクロラムフェニコール耐性遺伝子を大腸菌内に導入した。その発現を駆動するプロモーターの種類、リボソーム結合部位(RBS)の配列を変更することで、平均発現量とともに、そのゆらぎ幅も改変する。また発現する耐性タンパク質に異なる種類の *ssr* タグを結合させることで、タンパク質の分解率を変え、結果として、発現量の時間変動に対する自己相関の減衰時間を改変した。また、ラクトース誘導性プロモーター (PLlac0-1) を用いて発現させる場合には、誘導物質の取り込みに関わる、lactose permease (*lacY*) を欠損させた株も作成し、LacYを介した発現のポジティブフィードバックがある場合とない場合で、発現ゆらぎの性質に差が生じるか検証した。

(2) 構築した大腸菌株の薬剤応答の1細胞計測を実現するマイクロ流体デバイスを構築した(図1)。具体的には、クローン集団中に存在するごく低頻度のパーシスターを検出するため、 $10^5$ 以上の細胞の薬剤応答を1細胞レベルで一挙に観察できるデバイスを設計、作製した。また、数十世代以上の長い時間スケールで起こる大腸菌の適応応答を観察するため、直交する流路構造と半透膜によるガラスシール技術を利用した長期計測デバイス「ダイナミクス・サイトメーター」を作製した[5]。

(3) 1細胞レベルで時間的に変動する遺伝子発現量のゆらぎに対して、異なる発現量状態によって細胞の適応度がどのように変化するかという定量情報（適応度地形）と、そのような発現量の差が、集団内で起こる選択とどの程度強く相関しているかを評価する定量的指標（選択強度）を与える一般的な解析手法を考案した[6]。この解析フレームワークでは、1細胞計測によって得られる多数の細胞系統樹の情報をもとに、各細胞系列で観察された分裂回数に着目し、二つの確率分布（Chronological probability, Retrospective probability）を与える。この二つの確率分布は、注目する各系列の形質（遺伝子発現量など）と分裂回数が独立な場合、すなわち細胞の適応度に影響を与えないとき一致する。逆にこの二つの確率分布に差がある場合、注目する形質の差と適応度が相関している。この性質を利用して、細胞系列の任意の表現型形質に対する適応度地形と選択強度を与える表式を定義した（図2）。

ストレプトマイシン耐性遺伝子を発現する大腸菌の細胞系譜に対し、この解析フレームワークを適用し、培養環境中でのストレプトマイシンの有無に依存して、耐性タンパク質の「発現量」や「産出率」といった形質に対する適応度地形や選択強度がどのように変化するか評価した。

(4) 上記(2)で構築した、アレイ状に配置されたマイクロチャンバーを有する1細胞計測デバイスを用い、アンピシリンに対する野生型大腸菌のパーシスタンス現象の解析を行なった。多点タイムラプス顕微鏡観察と組み合わせることで、 $10^5$ 以上の細胞の薬剤応答を同時に計測することを可能にした。また、観察された生存細胞の挙動が、集団がもともと置かれていたGrowth phaseにどの程度依存するかを明らかにするため、Exponential phase, Early stationary phase, Late stationary phaseから細胞を分取し、これをデバイスに導入し、その薬剤応答を観察した。さらに培地の影響を見るため、LB培地だけでなく、M9最小培地を用いた薬剤応答の計測も行なった。以上の計測によって明らかになった細胞の生存挙動の一般性を評価するために、ゲンタマイシン、シプロフロキサシンに対するパーシスタンスの1細胞計測も実行した。

(5) 上記(2)で構築したダイナミクス・サイトメーターを用いて、クロラムフェニコールの耐性遺伝子を発現する大腸菌に対し、最小増殖阻止濃度（MIC）のクロラムフェニコールに定常的に晒し、その環境下で起こる大腸菌の適応挙動を100世代以上にわたって計測した。また得られた細胞系譜を用いて、個々の細胞内での耐性タンパク質の発現量と適応度の関係を定量評価した。またこの計測内で観察された、薬剤に適應する細胞内で起こる状態変化の詳細を明らかにするため、リボソームの大サブユニット、小サブユニットを構成するタンパク質をそれぞれ異なる色で蛍光標識した大腸菌株を構築した。

適応を実現した細胞が、より高い薬剤濃度に対しても耐性を示すか確認するため、マイクロデバイス中で細胞を観察しながら段階的に薬剤濃度を高め、細胞の成長が阻害されるか確認した。

また、薬剤に対する長期的な適応が表現型レベルで生じているのか、それとも遺伝型の変異を伴うものかを明らかにするため、限界希釈法を用いて1細胞由来の細胞集団を回収し、その遺伝型を全ゲノムシーケンセスにより確認した。また回収された細胞集団のトランスクリプトーム解析も行い、生存細胞がどのような発現状態を獲得していたか確認した。

#### 4. 研究成果

(1) 大腸菌の薬剤耐性遺伝子の発現を駆動するプロモーターやRBS、また分解率を変える *ssr* タグの種類などを改変した大腸菌株を複数構築した。この遺伝子発現モジュールは、プラスミド上に構築して大腸菌に導入するだけでなく、そのゲノムに組み込んだ株も構築した[6]。プラスミドから発現するか、ゲノムから発現するかによっても、発現量やゆらぎ幅に差が生じることを確認した。またラクトース誘導性のプロモーター（PLlac0-1）を用いる場合、ホストのゲノム上にある *lacY* 遺伝子の有無により、分布形が変化することを確認した。特に、誘導物質 IPTG の濃度に応じて、*lacY* 遺伝子を保持する大腸菌では、薬剤耐性タンパク質の発現量がスイッチ様に変化し、中間的な誘導物質の濃度においては、集団内の発現量分布が二峰性を示した。一方、*lacY* 遺伝子を欠損した大腸菌では誘導物質の濃度に応じて平均発現量はなだらかに上昇し、また分布も常に単峰性を維持していた。

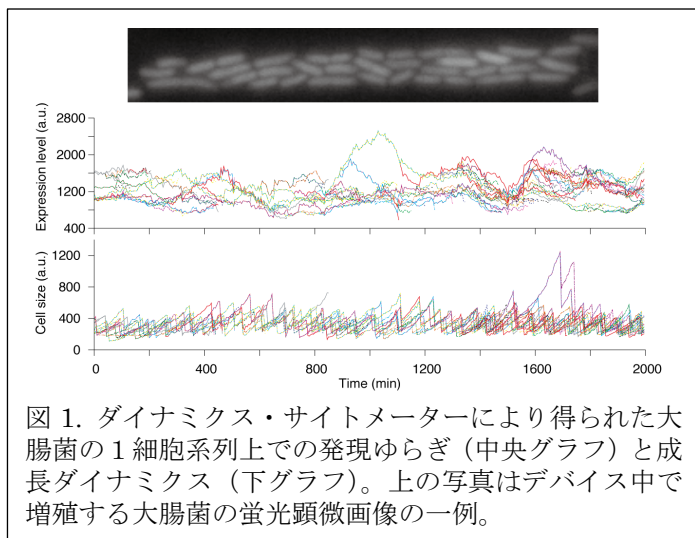


図1. ダイナミクス・サイトメーターにより得られた大腸菌の1細胞系列上での発現ゆらぎ（中央グラフ）と成長ダイナミクス（下グラフ）。上の写真はデバイス中で増殖する大腸菌の蛍光顕微画像の一例。

ストレプトマイシン耐性タンパク質に異なる *ssr* タグを付加したものを発現する大腸菌を用い、ストレプトマイシンに対する応答を1細胞レベルで計測したところ、分解率の大きい耐性タンパク質を発現する大腸菌は、その平均発現量が高くても、生存効率が低下することを見出した。これは、タンパク質の分解率が高いことで、細胞内における耐性タンパク質の発現量が時間的に速く揺らぎ、薬剤投与直後に比較的高い耐性を保持していた細胞であっても、その耐性が速やかに失われるためと考えられる。

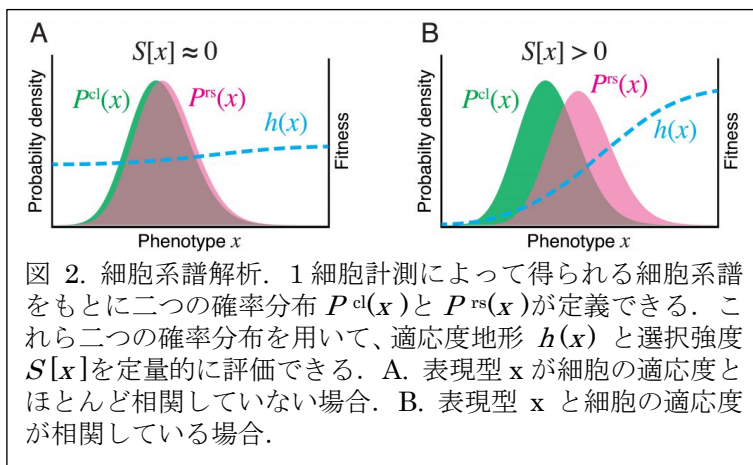


図 2. 細胞系譜解析. 1細胞計測によって得られる細胞系譜をもとに二つの確率分布  $P^{cl}(x)$  と  $P^{rs}(x)$  が定義できる. これら二つの確率分布を用いて、適応度地形  $h(x)$  と選択強度  $S[x]$  を定量的に評価できる. A. 表現型  $x$  が細胞の適応度とほとんど相関していない場合. B. 表現型  $x$  と細胞の適応度が相関している場合.

(2) 顕微鏡のカバーガラス上に、 $35\ \mu\text{m}(\text{h}) \times 45\ \mu\text{m}(\text{w}) \times 1\ \mu\text{m}(\text{d})$  のサイズのマイクロチャンバーを多数アレイ上に構築し、その内部にセルロース半透膜を用いて細胞を閉じ込め計測するデバイスを構築した。多点タイムラプス計測によりこのデバイス内の細胞を観察することで、3分間隔で  $10^5$  以上の細胞の薬剤応答を1細胞レベルで観測できることを確認した。このデバイスを用いて、アンピシリンに対する野生型大腸菌のパーシスタンス現象の計測を行なった。その結果、集団内での存在頻度が  $10^{-4}$  以下である生存細胞を初めて直接検出することに成功し、その薬剤応答の詳細を明らかにすることに成功した (下記(4)において詳述)。

また、ダイナミクス・サイトメーターでは、大腸菌の1細胞系列を定常環境下で100世代以上にわたって観察できることを確認した[5]。このデバイスを用いることで、様々な定常環境条件下で細胞の増殖ゆらぎを定量し、ゆらぎが大きいほど集団の増殖率が相対的に増加すること、増殖ゆらぎの平均と分散には線形関係があることなどを明らかにした。またこのデバイスを用いて、上記(1)で構築したクロラムフェニコール耐性遺伝子を蛍光タンパク質との融合タンパク質として発現する大腸菌株を長期にわたって観察し、MIC付近で起こる長期的な薬剤に対する適応応答を詳細に計測することに成功した (下記(5)において詳述)。

(3) 新たに構築した細胞系譜の解析フレームワークを用いて、ストレプトマイシン耐性遺伝子を発現する大腸菌の細胞系譜を解析したところ、耐性遺伝子の発現量よりも、産出率の方が、外部環境におけるストレプトマイシンの有無に応じて、選択強度が大きく変化することを明らかにした[6]。

また、この解析フレームワーク自体の理論研究も推し進め、その結果、任意の細胞集団の増殖率を「細胞の内因的成長率」と「選択強度」に分解できることを明らかにした。細胞系譜から計算できる選択強度は、細胞系譜を時間順方向で見るか、時間逆方向で見るかによって変化する統計の差 (カルバック-ライブラー情報量) として定義されるが、これが集団内の選択に由来する集団増殖率の増加分と直接対応していることを明らかにした。

(4) 上記(2)で開発したアレイ状マイクロチャンバーのデバイスを用いた計測により、アンピシリンに対する野生型大腸菌のパーシスタンス現象における生存細胞を1細胞レベルでとらえることに初めて成功した。従来、このパーシスタンス現象では、もともと集団中に存在するドーマント細胞が生き残ると言われていたが、実際に1細胞レベルでの挙動を観察した結果、特に Exponential phase から分取された細胞集団では、生き残る細胞の大半は、もともと成長・分裂を行っていた細胞であった。これらの成長細胞は、薬剤投与に応じて、スフェロプラスト状に細胞形態を変化させ、一方で分裂を継続しながら生き残るものと、薬剤投与に応じて成長を停止して生き残るパターンが観察された。一方、成長相が Stationary phase に近づくにつれ、ドーマント型の生存細胞の割合が増加し、Late stationary phase から分取された細胞群では、ほぼ全ての生存細胞がドーマント細胞であった。このことから、同じ薬剤に対するパーシスタンス現象であっても、生き残りのモードは複数存在することが明らかになった。また、アンピシリン以外の薬剤に対する野生型大腸菌のパーシスタンス現象でも、ドーマント様式以外の生き残りモードがより高頻度に認められた。以上の結果は、バクテリアのパーシスタンス現象における生存方式は、成長相や薬剤などの詳細に依存して変化することが明らかになった。

(5) 蛍光標識されたクロラムフェニコール耐性タンパク質を発現する大腸菌に対し MIC のクロラムフェニコールを晒し続けると、大多数の細胞は不可逆的に成長を停止する一方、一部の細胞が2~3日程度かけて徐々に成長率を回復し、その後安定に耐性を維持しながら、すべての子孫細胞が成長し続ける適応応答が起こることを明らかにした。さらに、これらの適応細胞集団はより高濃度のクロラムフェニコールに対しても耐性を示すことを明らかにした。

この適応が遺伝型の変化を伴って発生していたのかを確認するため、一度デバイス中で薬剤を除去し、薬剤なしの環境で8時間増殖させ、再度同じMICのクロラムフェニコールに晒したところ、子孫細胞は速やかに成長を停止し、再増殖はほとんど観察されなかった。このことから、1度目のクロラムフェニコール投与で確認された適応は、表現型レベルで生じていると考えられる。このことは全ゲノムシーケンスでも変異が認められなかったことから裏付けられた。

この大腸菌集団内には、薬剤投与前から耐性タンパク質の発現量にばらつきが存在する。この耐性タンパク質の発現量の大小と、細胞の適応度（どの程度多数の子孫を残せたか）の関係を調べたところ、薬剤投与時の発現量の大小は、適応度と正の相関を持つが、薬剤投与下で徐々にこの相関性は弱まり、適応が生じる時間帯においては、発現量の大小と適応度はほぼ無相関であった。実際、適応が起きる時間帯での適応度の上昇は、内部の耐性タンパク質の発現量の増加を伴わずに発生していることから、耐性タンパク質の発現以外で起こる、グローバルな細胞内状態のリモデリングに基づいて、細胞の適応が起きていると考えられる。

さらに限界希釈法により、1細胞由来の適応集団を回収し、そのトランスクリプトーム状態を調べたところ、集団ごとに、その発現状態が大きく異なることを明らかにした。このことは、それぞれの細胞系列で適応を実現した発現条件が異なることを示唆している。また、適応を実現する発現状態は複数存在することを示している。この結果は、細胞の順応応答の一般性が適応状態の多数性に支えられている可能性を示唆している。

#### <引用文献>

- [1] Y. Wakamoto *et al.*, “Dynamic persistence of antibiotic-stressed mycobacteria.,” *Science (80-. )*, vol. 339, pp. 91-5, 2013.
- [2] H. F. Chambers and F. R. Deleo, “Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era.,” *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 7, no. 9, pp. 629-41, 2009.
- [3] E. Toprak, A. Veres, J.-B. Michel, R. Chait, D. L. Hartl, and R. Kishony, “Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug selection.,” *Nat. Genet.*, vol. 44, no. 1, pp. 101-5, Jan. 2012.
- [4] S. Suzuki, T. Horinouchi, and C. Furusawa, “Prediction of antibiotic resistance by gene expression profiles,” *Nat. Commun.*, vol. 5, p. 5792, 2014.
- [5] M. Hashimoto *et al.*, “Noise-driven growth rate gain in clonal cellular populations,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 113, no. 12, pp. 3251-3256, Mar. 2016.
- [6] T. Nozoe, E. Kussell, and Y. Wakamoto, “Inferring fitness landscapes and selection on phenotypic states from single-cell genealogical data.,” *PLoS Genet.*, vol. 13, no. 3, p. e1006653, Mar. 2017.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 小林鉦石, 亀井健一郎, 中岡秀憲, 若本祐一	4. 巻 60
2. 論文標題 ラマンスペクトルから細胞の遺伝子発現を推定する	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 108-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.60.108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi-Kirschvink, K. J., Nakaoka, H., Oda, A., Kamei, K. F., Noshio, K., Fukushima, H., Kanesaki, Y., Yajima, S., Masaki, H., Ohta, K., Wakamoto, Y.	4. 巻 7
2. 論文標題 Linear Regression Links Transcriptomic Data and Cellular Raman Spectra	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Systems	6. 最初と最後の頁 104-117.E4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cels.2018.05.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 亀井健一郎, 小林鉦石, 中岡秀憲, 若本祐一	4. 巻 77
2. 論文標題 細胞のラマンスペクトルから遺伝子発現プロファイルを推定する新手法	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 17-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakaoka, H., Wakamoto, Y.	4. 巻 15
2. 論文標題 Aging, mortality, and the fast growth trade-off of <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS Biology	6. 最初と最後の頁 e2001109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001109">https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001109</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 中岡秀憲, 梅谷実樹, 若本祐一	4. 巻 55
2. 論文標題 1細胞レベルの環境応答と選択の計測	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 263-268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1271/kagakutoseibutsu.55.263	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nozoe, T., Kussell, E., Wakamoto, Y.	4. 巻 13
2. 論文標題 Inferring fitness landscapes and selection on phenotypic states from single-cell genealogical data	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1006653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1006653	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakajima, A., Ishida, M., Fujimori, T., Wakamoto, Y., Sawai, S.	4. 巻 16
2. 論文標題 The Microfluidic lighthouse: an omnidirectional gradient generator	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Lab Chip	6. 最初と最後の頁 4382-4394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c6lc00898d	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto, M., Nozoe, T., Nakaoka, H., Okura, R., Akiyoshi, S., Kaneko, K., Kussell, E., Wakamoto, Y.	4. 巻 113
2. 論文標題 Noise-driven growth rate gain in clonal cellular populations	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 3251-3256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1519412113	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Pleska, M., Qian, L., Okura, R., Bergmiller, T., Wakamoto, Y., Kussell, E., Guet, C. C.	4. 巻 26
2. 論文標題 Bacterial autoimmunity due to a restriction-modification system	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 404-409
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2015.12.041	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 若本祐一	4. 巻 50
2. 論文標題 細胞表現型ゆらぎの適応的意義と1細胞統計	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 顕微鏡	6. 最初と最後の頁 86-91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計48件 (うち招待講演 20件 / うち国際学会 20件)

1. 発表者名 Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Predicting transcriptomic states in living cells from Raman spectra
3. 学会等名 UBI-NanoLSI Joint Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梅谷実樹、橋本幹弘、大倉玲子、古澤力、若本祐一
2. 発表標題 Dynamic association between gene expression and fitness in adaptive resistance
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 小金澤優太、佐藤守俊、若本祐一
2. 発表標題 History Dependent Phenotypic Buffering of Bacteria against Drug Resistant Gene Deletion
3. 学会等名 第92回日本細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koganezawa, K., Sato, M., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 History-dependent Maintenance of Drug Resistant Phenotypes against Resistant Gene Deletion
3. 学会等名 qBio 2019 Conference（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小金澤優太、佐藤守俊、若本祐一
2. 発表標題 耐性遺伝子の除去に抗した薬剤耐性表現型の履歴依存的な維持
3. 学会等名 第13回細菌学若手コロッセウム in みやぎ蔵王
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小金澤優太、佐藤守俊、若本祐一
2. 発表標題 耐性遺伝子の除去に抗した薬剤耐性表現型の履歴依存的な維持
3. 学会等名 第91回日本遺伝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小金澤優太、梅谷実樹、佐藤守俊、若本祐一
2. 発表標題 History-dependent maintenance of resistant phenotype against resistant gene deletion
3. 学会等名 第93回日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梅谷実樹、藤澤美穂、大倉玲子、若本祐一
2. 発表標題 大腸菌のパーシスタンス現象で観察される多様な生存モード
3. 学会等名 第13回 日本ゲノム微生物学会 若手の会 研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miki Umetani
2. 発表標題 Enhancement of multimodality of adaptive drug resistance at the single-cell level
3. 学会等名 The 8th human ecology seminar (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakaoka, H., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Slow adaptation to low-glucose environments
3. 学会等名 10th International Fission Yeast Meeting POMBE 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 亀井健一郎、小林鉦石、若本祐一
2. 発表標題 Prediction of Bacterial Growth Curves from Cellular Raman Spectra
3. 学会等名 第19回東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kamei, K. F., Kobayashi-Kirschvink, K. J., Nakaoka, H., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Bacterial proteomes are predictable from cellular Raman spectra
3. 学会等名 APS March Meeting 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山内竣平、若本祐一
2. 発表標題 大腸菌の進化過程における集団成長率の変化に対する1細胞レベルでの成長率のばらつきの寄与の評価
3. 学会等名 2019年度(第29回)日本数理生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 若本祐一
2. 発表標題 細菌パーシスタンスにおける生存モードの多様性
3. 学会等名 第41回分子生物学会年会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 若本祐一
2. 発表標題 パーシスタンス現象の1細胞解析
3. 学会等名 第3回抗酸菌研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 若本祐一
2. 発表標題 特殊な細胞ヒストリーをとらえる1細胞計測技術
3. 学会等名 第32回さんわかセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 若本祐一
2. 発表標題 細胞ラマンスペクトルを用いたトランスクリプトームの非破壊測定
3. 学会等名 形態解析ワークショップ - 多様な顕微鏡を用いて（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 若本祐一
2. 発表標題 細胞ラマンスペクトルを用いたトランスクリプトームの非破壊測定
3. 学会等名 農芸化学会2019年度大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小金澤優太, 佐藤守俊, 若本祐一
2. 発表標題 光遺伝子操作を利用した薬剤耐性遺伝型の変化に反する耐性表現型の長期的な維持
3. 学会等名 第18回生命科学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小金澤優太, 佐藤守俊, 若本祐一
2. 発表標題 光遺伝学を利用した薬剤耐性における遺伝型-表現型の履歴依存性の解明
3. 学会等名 日本遺伝学会第90会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小金澤優太, 佐藤守俊, 若本祐一
2. 発表標題 光遺伝子組換えに反した薬剤耐性表現型の長期的な維持
3. 学会等名 生命科学系フロンティアミーティング2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小金澤優太, 佐藤守俊, 若本祐一
2. 発表標題 有害遺伝子変異に対する表現型バッファの履歴依存性
3. 学会等名 第17回微生物研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koganezawa, Y., Sato, M., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 History Dependent Phenotypic Buffering of Bacteria against Drug Resistant Gene Deletion
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamauchi, S., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Cumulant expansion of population growth rate of cellular reproductive systems
3. 学会等名 Advances in Physics of Emergent orders in Fluctuations (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山内竣平、若本祐一
2. 発表標題 A new measure of the interrelation of cellular phenotypes in cellular reproductive systems
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山内竣平、若本祐一
2. 発表標題 1細胞レベルの成長率のキュムラントによる集団の成長率の理解
3. 学会等名 定量生物学の会 第九回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamauchi, S., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Characterization of Population Growth Rates through Cumulants of Single-cell Growth Rates
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mori, T., Yamauchi, S., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Measuring the changes of cellular growth rate and selection in the evolutionary process of bacteria
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujisawa, M., Umetani, M., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Multimodal persistence and its history-dependent kinetics in antibiotic-stressed Escherichia coli
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤澤美穂、梅谷実樹、若本祐一
2. 発表標題 大腸菌のパーシスタンス現象における生存モードの多様性と履歴依存性について
3. 学会等名 生命科学フロンティアミーティング2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fujisawa, M., Umetani, M., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Multimodal persistence of antibiotic-stressed Escherichia coli
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakaoka, H., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Growth, Death, and Aging in Fission Yeast
3. 学会等名 9th International Fission Yeast Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Seita, A., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Heterogeneous response of lymphocytic cells to Mitomycin-C revealed by microfluidic single-cell time-lapse microscopy
3. 学会等名 Single-Cell Biophysics: Measurement, Modulation, and Modeling (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yamauchi, S., Nakaoka, H., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Differences in growth statistics in different schemes of long-term single-cell measurements
3. 学会等名 Single-Cell Biophysics: Measurement, Modulation, and Modeling (国際学会)
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 Fujisawa, M., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Multitudes of persistence modes and subsequent re-growing kinetics in antibiotic-stressed Escherichia coli
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kamei, K.F., Kobayashi-Kirschvink, K.J., Nakaoka, H., Oda, A., Ohta, K., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 On the linearity between Raman spectra and transcriptomes
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Koganezawa, Y., Sato, M., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Long-term maintenance of resistant phenotype against optogenetical modification of genotype in Escherichia coli
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Umetani, M., Hashimoto, M., Fujisawa, M., Furusawa, C., Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Non-genetic adaptation of antibiotic-stressed Escherichia coli
3. 学会等名 Winter Q-Bio 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 若本 祐一
2. 発表標題 Unique single-cell histories that adapt to antibiotic stress
3. 学会等名 第90回日本細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Constraints and limits in the growth of microbial cells
3. 学会等名 Physical Approaches for Growing and Evolving Population（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Single-cell dynamics leading to drug resistance acquisition
3. 学会等名 International Symposium on Universal Biology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Acquisition of drug resistance at the single-cell level
3. 学会等名 第54回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 若本 祐一
2. 発表標題 ストレス環境に対する適応・順応を担う特殊細胞系列の解析
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会9.0 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Techniques for measuring and analyzing single-cell histories and lineage trees
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第59回シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Growth and adaptation at the single-cell level
3. 学会等名 QBiC Symposium 2015: High-Dimensional Data for the Design Principles of Life (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 若本祐一
2. 発表標題 細胞の増殖と死に見られる定量法則
3. 学会等名 第38回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Wakamoto, Y.
2. 発表標題 Fitness and gene expression from the viewpoint of single-cell lineages
3. 学会等名 QBio NIG International Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 若本祐一
2. 発表標題 バクテリアの適応ダイナミクスの1細胞解析
3. 学会等名 生命動態システム科学四拠点・CREST・PRESTO・QBiC合同シンポジウム「生命動態の分子メカニズムと数理」(招待講演)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 トランスクリプトーム推定装置およびトランスクリプトーム推定方法	発明者 若本祐一、小林鉦石	権利者 国立大学法人東京大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-234164	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 TRANSCRIPTOME ESTIMATION DEVICE AND TRANSCRIPTOME ESTIMATION METHOD	発明者 Wakamoto, Y., Kobayashi, K.	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、US10,379,052 B2	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

〔その他〕

<p>若本研究室ホームページ  <a href="http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/wakamoto-lab/">http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/wakamoto-lab/</a>            プレスリリース：分裂酵母における成長と死のトレードオフ  <a href="http://www.c.u-tokyo.ac.jp/info/news/topics/files/20170622pressrelease.pdf">http://www.c.u-tokyo.ac.jp/info/news/topics/files/20170622pressrelease.pdf</a>            プレスリリース：1細胞レベルの成長ゆらぎがクローン集団をより速く成長させる  <a href="https://www.c.u-tokyo.ac.jp/info/news/topics/20160308133646.html">https://www.c.u-tokyo.ac.jp/info/news/topics/20160308133646.html</a></p>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----