発現・機能解析ユニット

油谷　浩幸
（東京大学先端科学技術研究センター・シニアリサーチフェロー）

先端的1細胞オミックス・エピトランスクリプトーム解析の支援と高度化

野村　征太郎（東京大学大学院医学系研究科 先端循環器医科学講座 特任准教授）、
上田　宏生　（千葉大学 健康疾患オミクスセンター　特任准教授）

高度化における研究背景・目的

疾患組織における多様な細胞の状態変化や細胞間相互作用を理解し、創薬へ展開するには、遺伝子発現に加え、転写制御や空間配置を統合した解析が必要である。そこで、1細胞トランスクリプトーム・クロマチン解析と空間オミックス・病理情報を融合し、組織特性に応じた細胞同定の精度向上と、病態を規定する細胞集団・分子ネットワークの解明を進めている。さらに、1細胞解析から見出した心不全関連分子IGFBP7やCXCL1などを標的とする治療法開発を進め、標的探索から機能検証、治療効果の評価へとつなぐことで、1細胞オミックスを基盤とした創薬研究へと展開している。Fast Trackプロジェクトでは、細胞由来クロマチン複合体の構造とゲノム解析情報を統合するChIP-cryoEM-seq法の開発を進めている。また、Nanopore DRSはRNA配列と修飾を同一分子から解析できる一方、RNA種や修飾密度によりシグナル特性が異なり、既存ソフトのみでは多種・未知RNA修飾の網羅解析が難しい。そこで、RNA種と解析目的に応じた独自解析基盤を開発した。今後さらに1細胞オミックス・エピトランスクリプトーム解析による創薬研究は加速していく。

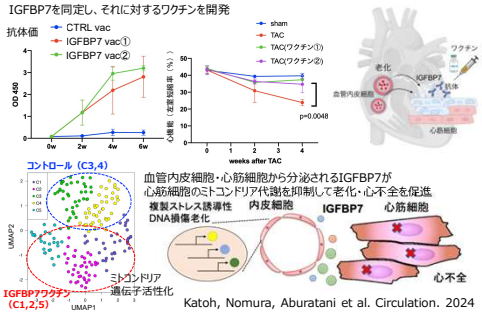
高度化の成果

先端的1細胞オミックス解析における高度化

オミックス解析から創薬へ

1細胞オミックスと創薬研究の融合（心不全IGFBP7ワクチン治療開発）

1細胞解析血管内皮細胞・心筋細胞から心不全特異的に発現上昇するIGFBP7を同定し、それに対するワクチンを開発

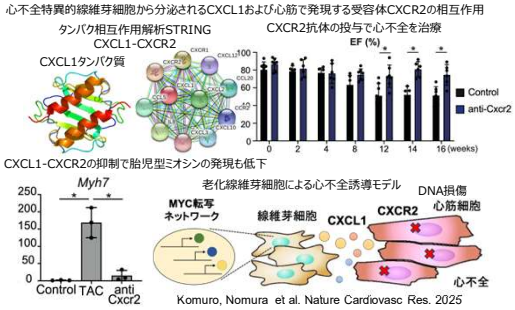


Katoh, Nomura, Aburatani et al. Circulation. 2024

大阪大学 中神啓徳先生との共同研究

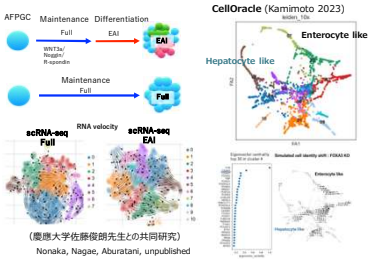
1細胞オミックスで同定されたCXCL1/CXCR2経路をブロックする中和抗体で心不全を治療できる

心不全特異的線維芽細胞から分泌されるCXCL1および心筋で発現する受容体CXCR2の相互作用



Komuro, Nomura et al. Nature Cardiovasc Res. 2025

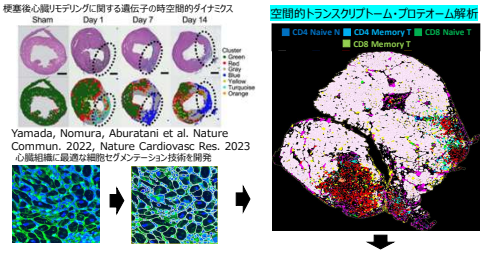
胃がん由来オルガノイドの２方向性分化を解明



（慶應大学佐藤俊朗先生との共同研究）

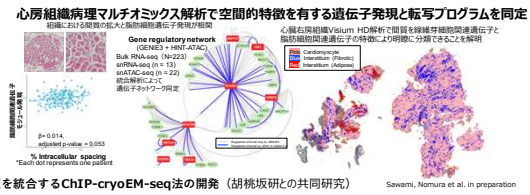
Nonaka, Nagae, Aburatani, unpublished

心臓組織における空間オミックス解析からの創薬研究開発



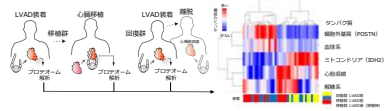
Yamada, Nomura, Aburatani et al. Nature Commun. 2022, Nature Cardiovasc Res. 2023

心房組織病理マルチオミックス解析で空間的特徴を有する遺伝子発現と転写プログラムを同定



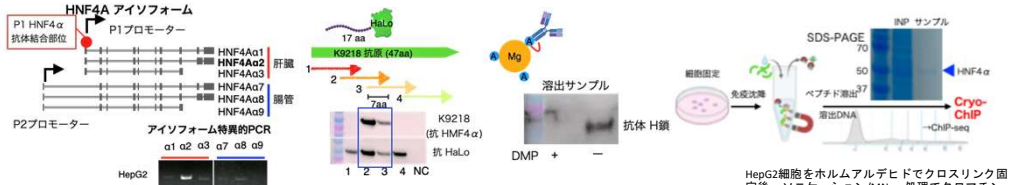
Sawami, Nomura et al. in preparation

補助心臓を入れた重症心不全患者における移植か回復かの分かれ道
重症心不全であってもミトコンドリア関連タンパク質があれば心機能回復が可能



FastTrackプロジェクト　細胞由来クロマチン複合体の構造とゲノム解析情報を統合するChIP-cryoEM-seq法の開発（胡桃坂研との共同研究）

特異的抗体(K9218)の作成 ➡ **抗体エピトープ同定** ➡ **抗体カラムの作成** ➡ **クロマチン免疫沈降**



HNF4αには複数のアイソフォームが存在する。P1プロモーターから転写されるP1-HNF4αに対する特異的抗体（K9218）を作製し、アイソフォーム特異的PCR解析により、肝細胞がん株（HepG2）では主にHNF4α2が発現していることを確認した。

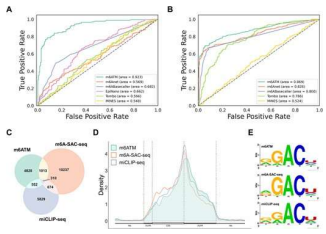
P1-HNF4α特異的抗体（K9218）のエピトープ部位を同定するため、Haloタグを付加した17アミノ酸断片の強制発現系を構築し、ウエスタンブロッティングを行った。

ターゲット精製時における溶出画分への抗体の溶出を防ぐため、架橋剤DMP（Dimethyl pimelimidate）を用いて抗体を担体に架橋固定させ、抗体アフィニティーカラムを作製した。

HepG2細胞をホルムアルデヒドでクロスリンク固定後、ソニケーション/MNase処理でクロマチンDNAを断片化した。作製した抗体アフィニティーカラムを用いて免疫沈降を行い、エピトープペプチドによる特異的溶出を実施。得られた溶出サンプルについて、SDS-PAGEでHNF4αタンパク質を確認し、回収DNAのサイズ分布を評価した。

エピトランスクリプトーム解析における高度化

①m6ATM　mRNA m6A 高精度検出



Boyi Yu,.Aburatani Ueda Briefings in bioinformatics 2024

② nanoDoc、nanoDoc2, nanoDoc3
Native/WT vs IVT/KO 修飾種非依存の候補検出

mRNAにおけるm6Aの高精度の検出を可能に

IVT 及び 修飾酵素 KO/KD サンプルとの比較により、学習を必要とせずRNA修飾を検出する。

化学ラベリングにも応用可能。

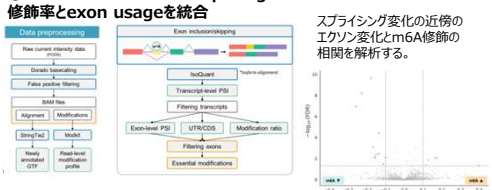


Ueda H, Dasgupta B, Yu BY. RNA Modification Detection Using Nanopore Direct RNA Sequencing and nanoDoc2. Methods Mol Biol. 2023

Ueda et al, nanoDoc3 (in preparation)

③ RNA modification × Splicing
修飾率とexon usageを統合

スプライシング変化の近傍のエクソン変化とm6A修飾の相関を解析する。



RNA修飾率とExon発現変化の同時解析解析例

④ Nanopore long-read DNA/RNA
+ epigenome マルチオミクス統合

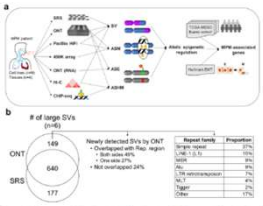


Figure 1. Long-read-based structural variant and allele-specific analysis with cross-platform validation

Chang et al, (in preparation)

中皮腫において Nanopore Long Read（DNA/RNA）メチル化（450K），Hi-C, ChIP-seqの統合解析を実施、系（パイプライン）を構築

今後の発展

今後は、1細胞トランスクリプトーム・クロマチン解析と空間オミックス、病理画像を統合し、細胞状態と組織内の位置関係、転写制御ネットワークを一体的に捉える解析基盤へと発展させる。多様な臨床検体やオルガノイドに対応した試料調製・細胞同定・データ解析の高度化を進め、疾患の発症・進展・回復に関わる細胞集団と細胞間相互作用を明らかにする。さらに、ロングリード解析との連携により、遺伝子アイソフォームや遺伝的変異を含む多層的な情報の取得を目指す。これらをCRISPRスクリーニングや疾患モデルによる機能検証と組み合わせ、観察に基づく候補分子の抽出から、病態を制御する因果的な標的の同定、分子機序の解明へと展開する。これまでに開発した治療法を足がかりに、治療介入による細胞状態の変化や応答性を評価し、創薬標的の検証、効果予測指標の探索を推進する。またFast Trackプロジェクトで開発している新規クロマチン解析手法をさらに発展させて創薬研究に応用する。また、エピトランスクリプトーム解析については、比較シグナル解析を基盤として、新規・未知RNA修飾の検出、chemical probingを利用した高感度な修飾検出、さらに同一RNA分子上の複数修飾の解析へと支援範囲を拡張する。また、共同研究者が有する実験系と連携し、splicing、RBP結合、翻訳などとの統合解析を高度化することで、RNA修飾の生物学的機能解明を支援する。そして、BINDS内外の研究者・企業との連携を通じて、先端解析技術の普及と新たな治療法の創出につなげる。