発現・機能解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
三浦　史仁（東京大学大学院新領域創成科学研究科・特任教授）

メチロームおよび多重エピゲノム解析の支援

補助事業分担者（所属・職名）
伊藤　隆司（九州大学生体防御医学研究所・特任教授）

支援概略

29 通常支援：進行16／完了10／未達1

8 令和7年度 支援実施件数

4 + 4 メチローム / 1本鎖DNA

メチローム解析

試料：固定組織・微小切出し

↓

基盤技術：**HiTE x sPBAT**

↓

得られる価値：

高度損傷・微量FFPEから
高感度**メチローム解析**

骨格筋老化・がんメチル化・腫瘍内異質性

cfDNA・超短鎖ssDNA

試料：血清・血漿・尿・髄液など

↓

基盤技術：**SDL-TOPO**

↓

得られる価値：

従来法で見落とされる
短鎖ssDNAまでライブラリー化

リキッドバイオプシー
／血液・尿・髄液cfDNA

複製中間体ssDNA

試料：岡崎フラグメント、DNA障害部位など

↓

基盤技術：**SDL-TOPO + OK-Seq**

↓

得られる価値：

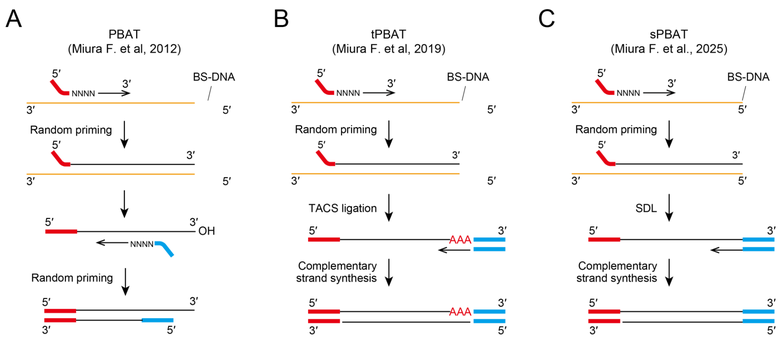
複製起点・フォーク挙動を
低入力で高解像度に計測

希少試料・マウス胚などへの展開

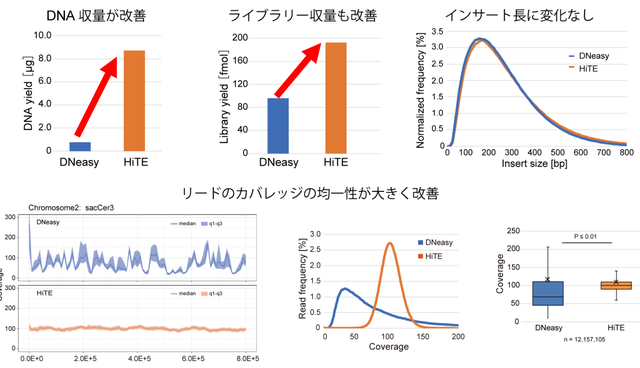
支援内容と支援技術

DNAメチローム解析の基盤技術群

高感度なメチローム解析技術Post-bisulfite adaptor tagging（PBAT）法



ホルマリン固定組織からのDNA回収法としてHiTE法を開発

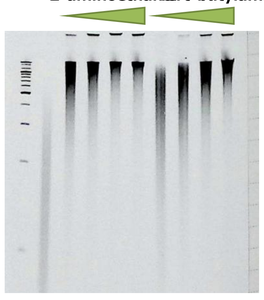


Oba et al., Biology Methods and Protocols (2022), 7, bpac014

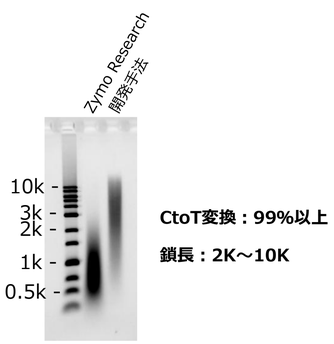
Long-read Bisulfite Sequencingの実現（AmBS-TBA法）

濃度依存的なDNA分解抑制効果

35% Ammonium Bisulfite
2-aminoethanol ⇔ tert-butylamine



最適化後のバイサルファイト処理DNA

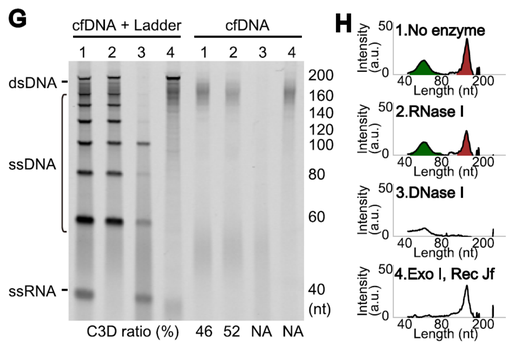


CtoT変換：99%以上

鎖長：2K～10K

血中セルフリーDNAの解析例

血中には50 nt前後の1本鎖DNAが大量に存在する
Ultrashort cell-free DNA (uscfDNA)



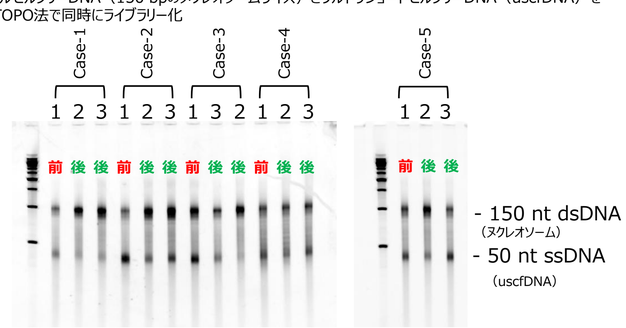
Hisano O et al., (2021)

1本鎖DNAからのライブラリー調製技術

TACS-T4（2021）
↓
TACS-TOPO（2023）
↓
SDL-TOPO（2025）

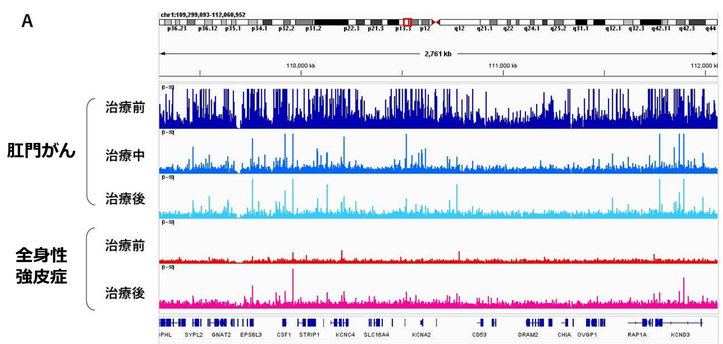
九州大学病院・放射線科　久野修先生の支援例（肛門がん治療前後比較）

カノニカルセルフリーDNA（150 bpのヌクレオソームサイズ）とウルトラショートセルフリーDNA（uscfDNA）をSDL-TOPO法で同時にライブラリー化

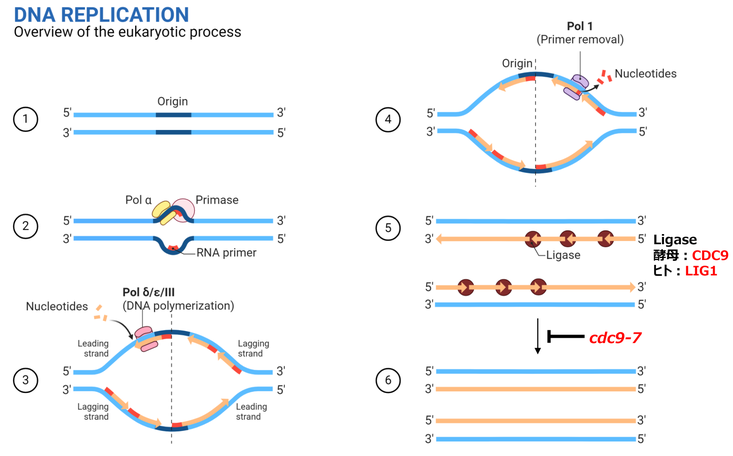


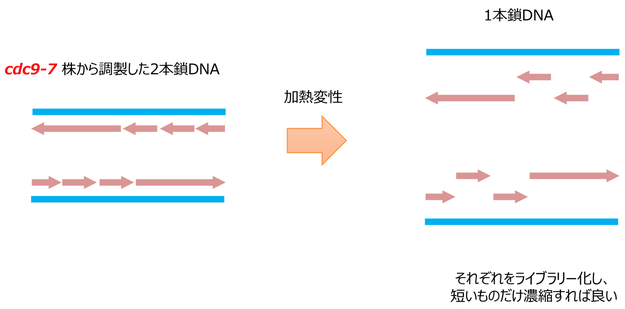
- 150 nt dsDNA（ヌクレオソーム）
- 50 nt ssDNA（uscfDNA）

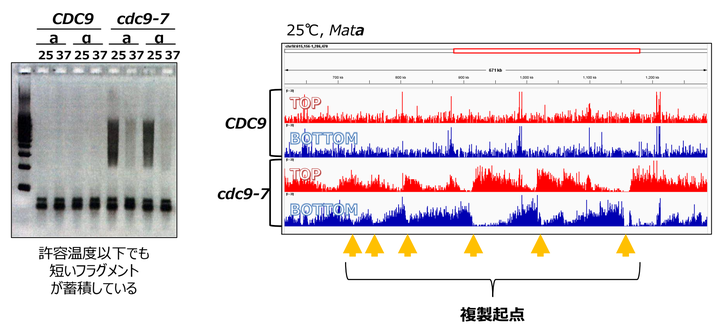
放射線と化学療法の後でuscfDNAの相対量が低下する傾向
→　がんでuscfDNA増加？



DNA複製起点解析の例







許容温度以下でも短いフラグメントが蓄積している

DNAリガーゼ阻害剤とSDL-TOPO法の組み合わせることで汎用的な複製方向の同定手法をつくれないか？

演題発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業・団体等はありません。