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）

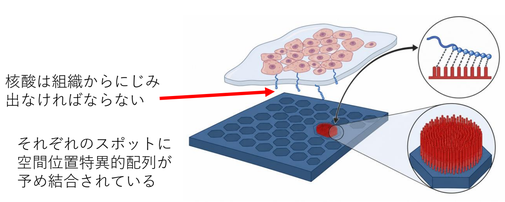
メチロームおよび多重エピゲノム解析の支援

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）

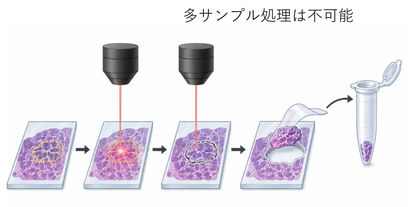
高度化における研究背景・目的

組織切片の空間オミクス解析の現状

1．組織形態と分子情報を対応づけて解析可能
2．現在はRNAを対象とした空間トランスクリプトーム解析が主流
3．ゲノム・エピゲノム・プロテオームへ拡張



固定バーコードアレイを用いた解析



レーザーダイセクションを用いた解析

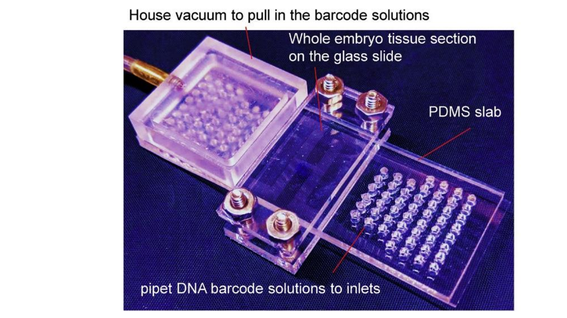
空間オミクス解析の高度化

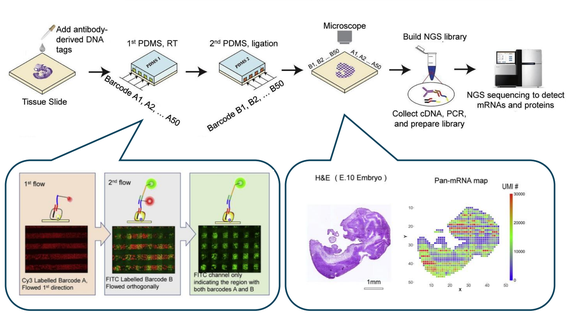
空間オミクス解析の多様化に向けた、組織上で局所的な反応操作

- 解析エリアの物理的な区画化
- 隣接領域への漏れを抑えた溶液置換
- 微小領域における多段階アッセイ

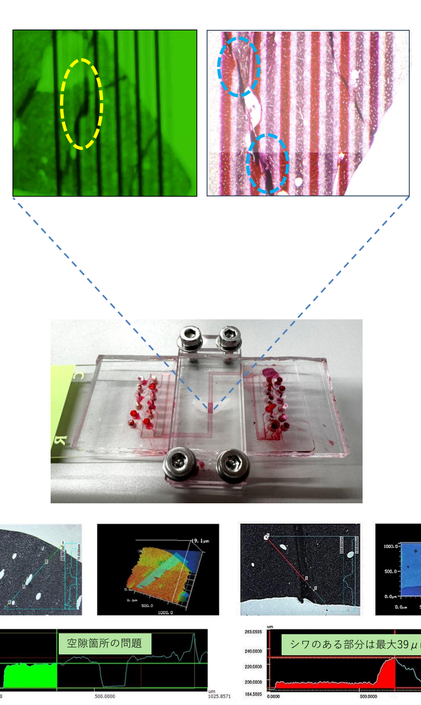
高度化の成果

従来法と課題



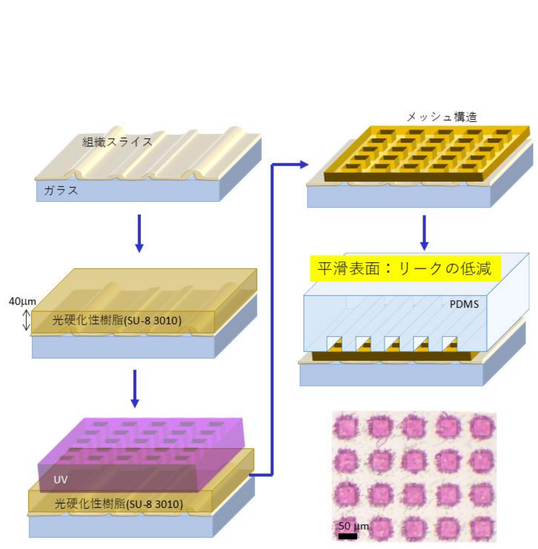


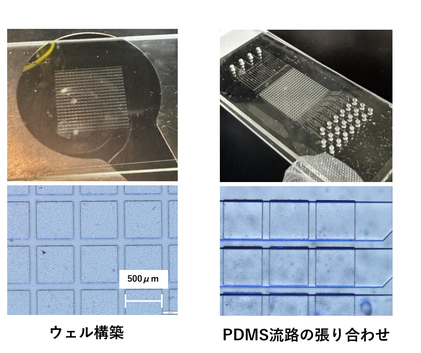
DBiT-seq（Liu et al., Cell, 2020）



マイクロ流路を用いた組織内空間バーコーディング法（ DBiT-seq ）と流路からの液漏れ

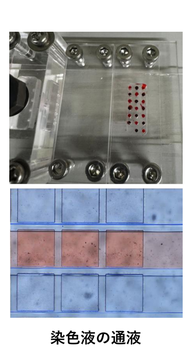
感光性レジスト（SU-8）による原理検証



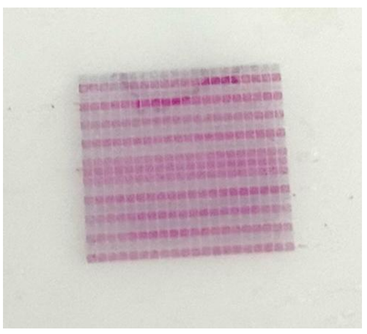


ウェル構築

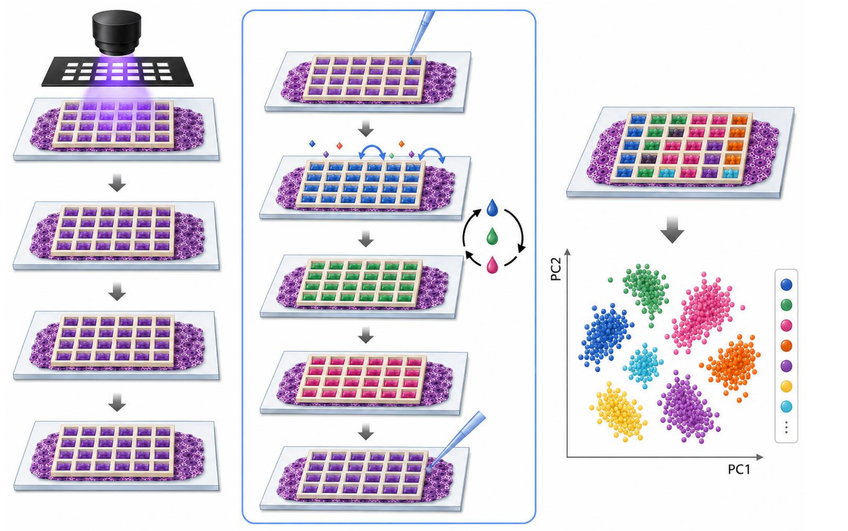
PDMS流路の張り合わせ



染色液の通液



微小ウェルによる空間位置情報の安定化

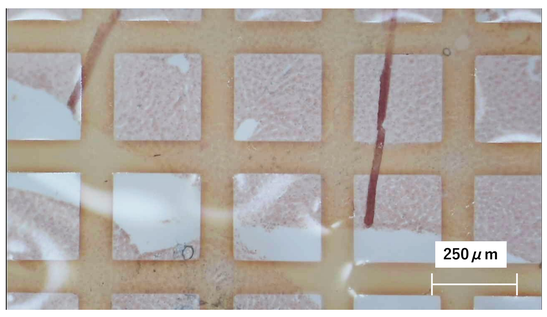


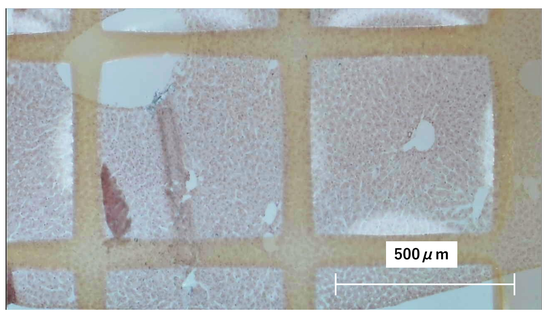
UV硬化樹脂による
ウェル作製

ウェル内溶液置換による
空間位置情報の付与

空間位置情報の解析

PEGDAによるマイクロウェルの作製





PEGDA濃度　：20%
ウェル高さ　：50μm
組織切片　：マウス肝臓FFPE（脱パラフィン後）

今後の発展

局所液置換による多段階アッセイ
抗体反応・酵素反応・洗浄を各ウェルで連続実施

空間ゲノム・エピゲノム解析
SNV/CNV解析、ATAC-seq、CUT&Tagなどへの応用

空間プロテオーム解析
各ウェルからタンパク質を局所抽出、LC-MS/MS解析

空間マルチオミクス解析
RNA・DNA・エピゲノム・タンパク質情報の統合

生細胞への応用
ウェルごとの薬剤・刺激付与と、その後の経時的応答解析