

研究開発構想(個別研究型)
「生体分子シーケンサー等の先端研究分析機器・技術」

「空間多重エピゲノム解析技術の開発と実用化」

研究開発実施報告書(年次)
令和6(2024)年度

研究代表者
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

1. 当該年度における研究開発の実施概要

(1) 研究開発概要

組織内のそれぞれの細胞のクロマチンDNAに対して複数のエピゲノム情報と当該細胞の組織内の空間位置情報とを同時に書き込む技術を開発します。エピゲノム情報は抗体とDNAメチル基転移酵素を組み合わせたメチル化フットプリンティング法により、空間位置情報はDNAメチル基転移酵素とマイクロ流路デバイスやインクジェット技術を組み合わせたメチル化空間バーコーディング法によりDNAに書き込みます。

(2) 実施内容と成果の概要（研究開発開始から当該年度末まで）

令和 6(2024)年度

メチル化フットプリンティング法は DNA メチル基転移酵素 (MTase) と抗体を連結した複合体をプローブとして使用することから、この原理をもとに多重エピゲノム解析を実現するためには MTase と抗体それぞれを多数開発する必要があります。また、空間メチル化バーコーディング法を用いて組織中の細胞の位置情報をクロマチン DNA 上に記録するためにはさらに多くの MTase が必要となります。また、空間メチル化バーコーディング法では空間位置特異的な MTase の反応を行うため、その酵素反応を空間的に制御するためのデバイスも必要となります。

そこで研究開始初年度となる 2024 年度は MTase の開発にまず取り組みました。MTase をコードすると予想された 98 遺伝子の合成を試み、得られた 89 遺伝子がコードする MTase の認識配列の確認を行いました。このうち 70 の MTase の認識配列を確定した結果、これらのタンパク質は重複を除いて 20 種類の配列を認識することが明らかになりました。これら 20 種の配列を認識する MTase をコードする遺伝子群からより活性と特異性の高いものを選抜し、いくつかの既知 MTase を加えた生産リストを作成し、順次生産を試みました。これまでに 14 種類のタンパク質の精製を終え、MTase 活性を有するタンパク質を 12 種類得ることに成功しました。

MTase の開発と並行して、さまざまなエピゲノムに対して特異的に結合することが可能な抗体様分子の開発にも取り組みました。17 種類の抗体様分子をコードする遺伝子群を酵母の組換えタンパク質の発現系に組み込み、発現誘導後にアフィニティ精製によって目的の抗体様分子を精製しました。13 のエピゲノムを認識すると考えられる 15 種類のタンパク質の精製に成功し、このうち 6 つについては標的エピゲノムに対する結合アッセイによりその親和性を確認することができました。残る 9 つの分子については、2025 年度に標的エピゲノムに対する特異性等を確認する予定です。

空間特異的に酵素反応を行うためのデバイスを開発するにあたり、このデバイスで採用する 2 つの原理の検討を行いました。それぞれの原理に特徴があり、一長一短があることがわかりました。どちらの原理を採用すべきなのか、引き続き検討を行う予定です。

2. 主たる研究分担者一覧

田澤 英克（早稲田大学 理工学術院情報生産システム研究センター・次席研究員（研究院講師））