

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02424

研究課題名(和文) シングルセル技術を用いた哺乳類多能性細胞の分化遷移過程とそのエピゲノム制御の解析

研究課題名(英文) Analyses on developmental transition process of mammalian pluripotent cells and its epigenomic regulations using single cell technologies

研究代表者

阿部 訓也 (ABE, KUNIYA)

国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・チームリーダー

研究者番号：40240915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：naive型からprimed型多能性幹細胞への転換過程をシングルセルRNA-Seqによって解析した結果、ES細胞とEpiSC以外の性質を示す細胞亜集団を同定した。偽時間推定により各クラスターの出現時期を推定するとともに、発現特異性の高い遺伝子群を抽出し、関与するパスウェイを同定した。新規に見出されたクラスターの一つは、EpiSCとよく類似した形態を持つが、異なる発現プロファイルを有するため、新規の多能性幹細胞であることが示唆された。またもう一つのクラスターでは興味深いことにゲノムワイドな遺伝子発現低下現象が認められ、このクラスターにおいて不活性X染色体を持つ細胞が出現することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞分化の進行を考える時、1)時間の経過に伴って徐々に、しかし確実に細胞形質が漸進的に変化する場合と、(2)ある定常状態から異なる定常状態へ遷移する場合などが想定されるが、本研究では、遷移現象を解析するための再現性の高い実験系が確立したことに意義があると考えられる。さらにこの系を用いて、新規の多能性幹細胞やグローバルな遺伝子発現低下を起こす細胞集団の発見、そしてX染色体不活性化に代表されるエピゲノム変動との関連を追及するための材料を提案したことについても、今後の広範な展開に繋がる学術的な意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Single-cell RNA-Seq analysis of naive-primed transition process was performed and 3 clusters that exhibit characteristics other than ES cells and EpiSC were identified. We estimated the time of appearance of each cluster after induction of differentiation by pseudotime analysis, and extracted a group of genes with high expression specificity to each cluster. One of the newly identified clusters had a morphology similar to that of EpiSCs but with a different expression profile, suggesting that it was a novel pluripotent stem cell. Interestingly, another cluster showed a genome-wide downregulation of gene expression, and it appears that X chromosome inactivation initiates in this cluster.

研究分野：発生遺伝学、幹細胞学、ゲノム科学

キーワード：細胞分化 分化遷移 多能性幹細胞 X染色体不活性化 シングルセル解析

1. 研究開始当初の背景

細胞分化の進行を考える時、1) 時間の経過と共に徐々に、しかし確実に細胞形質が漸進的に変化する場合と、2) ある定常状態から異なる定常状態へ遷移する場合などが想定されるが、実際の細胞分化の過程で、どちらの現象が起きているのか、具体的にどのような分子状態の変動が細胞形質の変化を導くのか、などについては未だ殆ど不明である。その理由としては、このような細胞分化あるいは遷移現象を解析するための再現性の高い実験系が未整備であることや、細胞集団中の個々の細胞におけるグローバルな分子変動を検出する解析技術がこれまでなかったことなどが挙げられる。

申請者は、これまで哺乳類初期胚に出現し、生殖細胞系列につながる多能性を有する細胞系譜の多角的な解析を行ってきた。マウス胚を用いた研究から、子宮への着床を契機にして、多能性細胞系譜では遺伝子発現の一過的な大規模変動が生じることを見出している。マウスの着床前期胚である胚盤胞の内部細胞塊からは naïve 型幹細胞であるマウス ES 細胞が樹立され、着床後胚のエピブラストからはヒト ES 細胞と共通した性質を持つ primed 型幹細胞である EpiSC (Epiblast Stem) 細胞が樹立できるが、申請者らは、Wnt シグナルの阻害剤を用いることにより、primed 型幹細胞である EpiSC 細胞株を高効率で樹立する方法を報告し (Sugimoto et al., 2015)、この培養技術を応用し、ES 細胞 (naïve) から EpiSC (primed) を高効率で誘導する実験系を世界に先駆けて確立した。この in vitro 実験系は着床前後における多能性細胞の形質変化を解析するための非常に有効なモデル系であると考え、この実験系を用いて、個々の細胞の分化形質の変遷を追跡しうるシングルセル RNA-Seq 解析を実施することとした。

上述した分化遷移現象の解明は、細胞分化を考える上で本質的な命題であり、これまで我々が確立した実験系と一細胞レベルの実験手法を組み合わせることにより、この問題が解明できると考え、本研究を構想するに至った。

2. 研究の目的

多能性細胞は、未分化性の高い naïve 状態とより分化の進んだ primed 状態の少なくとも 2 つの定常状態を取るものと考えられている。両者とも多分化能を持ち、発現する遺伝子にも共通性が高く、本質的な違いは無いと思われがちであるが、この 2 者間では顕著なエピゲノム状態の違いが存在する。例えば、DNA メチル化は primed 型細胞への分化過程で顕著に増大しており、それに並行してランダム XCI に象徴されるエピゲノム再プログラム化が進行する。さらに、核内構造の変化に伴い染色体 DNA の複製パターンも大規模に変動することが示唆されている。恐らく、primed 型多能性細胞自身は、いまだ高度に分化した細胞ではないが、その後の体細胞分化の準備のために、エピゲノム・核内構造を再編していく非常に重要な状態にあると考えられる。これまで、naïve 状態から primed 状態への転換を誘導すると、大量の細胞死が認められ、この過程を精密に解析することは困難であった。申請者らは、培養条件を再検討し、naïve-to-primed の転換を効率良く行い、精密な解析を可能とする実験系を確立することに初めて成功した。この実験系に一細胞オミックス解析技術を適用し、この遷移過程の詳細な解析を通じて、細胞分化過程における遷移現象の意義を追究することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) naïve-primed 転換過程の一細胞オミックス解析による分化遷移現象の実態解明：ES 細胞を EpiSC 培養条件下に置き、継時的にシングルセル RNA-Seq 解析を行い、t-SNE (t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding) 法と k-means 法によるクラスター解析を行ったところ、ES、EpiSC 以外の性質を示す細胞クラスター (細胞亜集団) が認められた。そこで、各クラスターの特性を調査するために、以下の解析を行う。偽時間推定 (pseudotime estimation) により、各細胞、各クラスターの分化誘導後の出現時期を推定し、擬似時系列に沿った遺伝子発現変動を計測する。この知見を元に Gene Ontology 解析、パスウェイ解析等を行い、各クラスターに特徴的な遺伝子パスウェイを検索するとともに、クラスター特異的発現を示す遺伝子を同定する。クラスター特異的遺伝子の産物に対する免疫染色を実施し、イメージング解析を行うことにより、各クラスターの出現を追跡する。また、シングルセル RNA-Seq (scRNA-seq) に加えて、シングルセル CAGE (Cap Analysis of Gene Expression) 解析を実施し、通常の RNA-Seq から得られない情報 (非翻訳性 RNA、polyA (-) RNA, enhancer RNA, 反復配列などの発現情報) を取得し、これらの RNA 発現と分化遷移の関連を追究する。

(2) 分化遷移過程の指標としての X 染色体不活性化プロセスの解析：雌 ES 細胞では、2 本の X 染色体は双方とも活性状態にあるが、分化の進行に伴い 1 本の X 染色体がランダムに選択され、不活性化を受ける。本研究では、マウス亜種間交雑により得られた胚から樹立された雌 ES 細胞

を用いており、亜種間に豊富に存在する1塩基多型(約100ベースに一つ)を利用し、各アレルからの遺伝子発現を識別して定量することが可能である。X連鎖遺伝子のアレル特異的発現を検出することにより、各細胞のX染色体不活性化の状態を決定する。現在まで、限られたデータを用いて情報学的解析パイプラインを構築し、XCIが分化進行に伴って生じること、RNA-FISHの結果とも合致することを確認してきた。そこで、次に全データを用いた詳細な解析を行い、XCIを開始していない細胞、その途上にある細胞、XCIが完了した細胞を同定する。これらを偽時間スケールに沿って並べることにより、偽時間のどの時点からXCIが開始され、いつ完了するかを決定する。次にXCI以前、途上、完了後の細胞の発現プロファイル、エピゲノム状態を比較解析し、不活性化の進行プロセスの実態、連関するエピゲノム変動に関する知見を得る。XCIはprimed状態では完了すると想定されるので、XCIの進行を指標として分化遷移過程を記述することを試みる。

(3) naïve-primed 転換過程におけるエピゲノム変動の意義の解明：

上記1) 2)の解析から、naïveからprimedへと遷移する過程の詳細な知見が得られるが、さらにこれらの分子レベルの変動に寄与すると想定される因子の機能解析を行う。この時期に特徴的なエピゲノム変動として、ゲノムワイドなDNAメチル化レベルの増大が挙げられる。DNAメチル化は、naïve型細胞の自己複製には必須ではなく、細胞分化には必要とされると予想されている。この点を検証するために、維持型DNAメチル化酵素であるDnmt1遺伝子のノックアウトマウスを用いて、着床後胚のエピプラスト(primed型幹細胞と類似した性質を有する)の発現解析を実施する。ノックアウト胚では、DNAメチル化が低下しているため、正常胚と比較することにより、この時期の胚における遺伝子発現に対するDNAメチル化の影響を調査する。

4. 研究成果

Naïve-primed変換過程のシングルセルトランスクリプトーム解析

Wnt阻害剤を用いた培養技術によって、雌マウス胚より樹立したXX ES細胞のprimed型細胞への転換を誘導した。通常のES細胞培地で培養した細胞をDay0、転換用培地で培養を始めて1日後のサンプルをDay1、以後1日置きに細胞を回収し、フリーダムのC1を用いて579個の単一細胞からSMART-Seq2プロトコルによって、scRNA-Seq用のcDNAを作製した。また、RNAの5'-端を

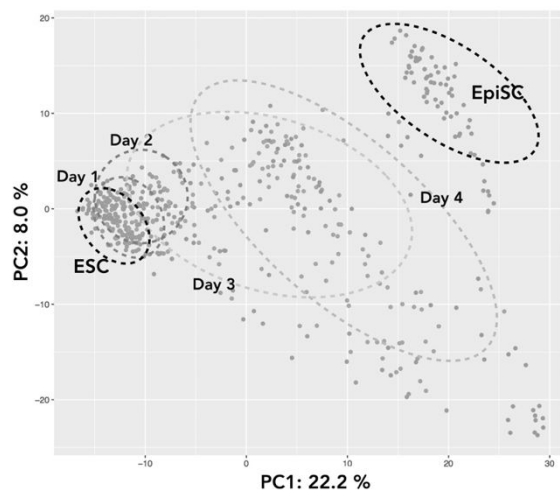


図1：1細胞RNA-Seq解析結果の主成分分析
(分化誘導後、3日、4日で細胞の多様性が一過的に増大している)

検出するシングルセル CAGE (C1 CAGE) 法を用いて、587個の細胞の解析を実施した。scRNA-Seqでは細胞あたり平均310万リード、C1 CAGEでは100万リードのデータを取得し、各単一細胞内で検出された発現遺伝子数の中央値は8000前後であった。まず、ナイーブ状態の既知のマーカー遺伝子、多能性マーカー、プライム状態のマーカーを確認したところ、これらのマーカー遺伝子は予想通りの発現パターンを示し、naïve-primed転換が期待通り進行していることが検証された。次に、各ステージ間の差次的発現遺伝子を探索するために、まずD0とEpiSC細胞間で遺伝子発現の差分(DE)解析を行った。その結果、2グループ間で950個の有意DE遺伝子が得られ、それを用いて階層的クラスタ分析、主成分分析(PCA)などによって転換プロセスにおける遺伝子発現変動を可視化することができた。PCA解析では、D0とD2サンプルは密集した細胞群を形成しているが、naïve型からprimed型へ変換する中間過程において細胞集団中の個々の細胞の遺伝子発現プロファイルの多様性が意外にも一過的に増大し、primed型へ近づくにつれて再び収束していくことが明らかとなった(図1)。このことは、細胞が安定な定常状態から一旦離れることが細胞分化に必要であることを示しているように思われた。EpiSC細胞はナイーブ型のES細胞の反対側にマップされるが、D3とD4サンプルはD0とEpiSCの間にマッピングされ、これらの細胞が移行状態にあることが示された。次に、同じセットの差次発現遺伝子に基づくt-SNE解析を用い、さらにk-meansアルゴリズムを用いて5つのクラスターに分類した(図2)。このクラスタリング結果は、細胞周期の影響を受けたものではないことを、Cell cycle phasing法によって確認した。

次に、擬似時間分析によって各クラスターの出現順序を推定したところ、クラスターの発生順序は1、2、3、4、5となることが明らかとなった。クラスター1(C1)は主にD0とD1細胞から構成されており、ほとんどがナイーブな多能性細胞だが、D2細胞はC1とC2の両方に含まれており、

D2では一部の細胞が多能性状態の変換を始めていることがわかる。C5に属する細胞はすべてEpiSCに相当していた。驚くべきことにES細胞とEpiSCの間に2つの中間的なクラスター（C3とC4）が存在することを見出した。C3、C4ともに、主にD3とD4の細胞から成っていた。またこの転換系から得られたprimed-like細胞をさらに10継代した細胞であるP10サンプル、また同様に

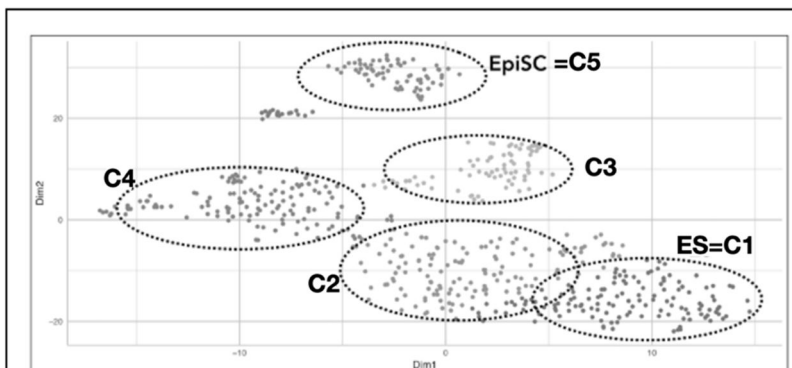


図2: naïve-to-primedのin vitro転換過程のクラスター解析
scRNA-seqデータをtSNE、k-means法によって解析した。ESをcluster1 (C1)とし、EpiSCをC5とした。C1からC5へと分化していく過程でC2、C3、C4の細胞亜集団が検出された

継代された細胞からクローニングされたClone 1Eサンプルが含まれていた。P10およびClone 1E細胞の形態はEpiSCと非常に類似しているが、C5とは明らかに異なる発現プロファイルを有し、10~20回継代しても、そのプロファイルを維持していることから、自己複製するEpiSCとは特性の異なる多能性幹細胞と考えられた。

シングルセル遺伝子発現

プロファイルに基づく t-SNE クラスターの特徴づけ

次に5つのクラスター間の差次的発現 (DE) 解析を行ない、各クラスターを特徴づける遺伝子群の探索を行った。全体的にみて、C3は、それ以前と以後のクラスターとは大きく異なる発現プロファイルを示していた。1044個のDE遺伝子を調べ、各クラスターに特異的あるいは、複数のクラスターに濃縮されている遺伝子等を同定した。これらのDE遺伝子の発現パターンに基づいて、各クラスターの特徴を概説すると、C1は、一般にナイーブ多能性遺伝子に富んでいるが、これらの遺伝子はC2にも共有されている。ただし、C1には、卵母細胞や着床前胚に特異的な遺伝子の発現も認められ、より発生初期の細胞に類似した性質を持つことが示唆された。C3では、トランスクリプトームの約1/3が発現低下している、という興味深い現象が認められた一方、このクラスターのみ特異的な発現上昇を示す遺伝子群も存在しており、他のクラスターと非常に異なる発現プロファイルを持つことが明らかとなった。C4では、既知のprimedマーカー遺伝子が発現しており、その多くはC5でも陽性であった。しかし、C4では発現しているが、C5では大きく減少している遺伝子も多く見つかリ、C4はC5と比較して明確に識別可能な発現プロファイルを有していた。C5はEpiSCのみからなり、C4とも共通したprimedマーカーを発現している。しかし、54のC5特異的遺伝子が同定されたため、C4細胞は、C5細胞とは異なる発現プロファイルを持ち、その性質を継代を経ても維持していることから、新規primed型幹細胞である可能性が高いことが示唆された。

DE遺伝子のパスウェイ解析により、C4とC5では細胞接着に関連する遺伝子に顕著な変化が認められ、転換過程で上皮化 (epithelialization) 状態が変化していることが示唆された。

C1 CAGEにより明らかとなった変換過程におけるプロモーター/エンハンサー活性の変動

CAGE解析によって得られたES細胞-EpiSC間のDE遺伝子を用いて、t-SNEプロットを作成した。その結果は、scRNA-SeqデータのtSNE解析結果とよく一致していたが、scRNA-Seqとは異なり、CAGEではpoly(A)+およびpoly(A)-RNAを検出することが出来る。そのため、ヒストン遺伝子転写物のようなノンポリアデニル化RNAを検出し、そのステージ特異的な変動も確認することが出来た。

NASTは、ナイーブESCに特異的に発現する比較的短い非翻訳性RNAの一種である。我々は、多くのNAST遺伝子が転換過程で発現し、一部はナイーブ状態特異的であることを見出した。さらに、C1 CAGEデータを用いて、変換過程におけるプロモーターおよびエンハンサーの変動を1細胞レベルで示すことが可能であった (エンハンサーについては、エンハンサーRNAの発現を指標にした)。やはり、C3を境にして多くのプロモーター、エンハンサーが変化することが明らかとなった。

RNA-FISHとscRNA-Seqで明らかになったD3でのX染色体不活性化の開始時期

前述のように、D2とD3の間は、細胞がナイーブな状態からより分化した状態に移行するポイントであることが示唆された。この点を追求するため、細胞分化の最も信頼できる指標の一つであるX染色体不活性化の状態を調査することにした。

Xist RNAのRNA-FISH解析から、D3から各細胞の核内にXist RNAのクラウドが次第に観察されるようになり、不活性化Xのもう一つの目印であるH3K27me3 depositも、同様な傾向を示した。各シングルセルにおけるX染色体/常染色体 (X/A) 発現比を計算したところ、D0、D1、D2では2に近いが、D3以降は1程度に減少しており、D2~D3の間にXCIが開始されることが示された。亜種間ゲノムに多数存在する1塩基多型(SNP)を利用して、対立遺伝子特異的発現解析を行なった。その結果、D2までは各X連鎖遺伝子のバイアレル発現が続くが、D3以降はX連鎖遺伝子のモノアレル発現が増加する傾向が観察された。D4では、半数以上の細胞でrXCIが成立していた。これらの結果は、RNA-FISHの結果と同様にrXCIがD2からD3へのタイミングで始まることを示している。

rXCIの開始とグローバルな遺伝子発現抑制の関連

scRNA-Seqデータの解析に基づき、各細胞を疑似時間軸に沿って並べ、疑似時間軸上でのrXCIの開始時刻を特定した。興味深いことに、不活性化が開始すると考えられるC3では、多くのX連鎖遺伝子の一過性の発現低下が観察された。このような発現低下は、X連鎖遺伝子に特異的ではなく、ゲノム全体で約6000の遺伝子の発現低下が起こり、C4になるとその回復が起こり、同時に多くの細胞では既にXCIが成立していた。この現象を異なる角度からみるために、細胞をXCIの状態を基にして4つのグループ、すなわち、XCI、XCI_Intermediates、XC_Active、No_definitionに分け、それらの状態をt-SNEマップ上の各細胞に重ね合わせた。C1、C2細胞はほぼ全てXCアクティブである。C3では多くの細胞でグローバル発現低下が起きるため、54%がNo_definitionとなっていたが、XCI (10%)、XCI-Int (13%)の細胞が検出され、XCIがC3で開始している傾向が認められた (XAは23%)。C4ではNo_definitionは2%に激減し、代わってXCI (57%)、XCI-Int (27%)とXCIがさらに進行していることが明らかとなった (XA=14%)。

着床前後におけるDNAメチル化増大と遺伝子発現の関連

以上のように、naïve-primed 転換過程において、大規模な遺伝子発現の変化が生じることを *in vitro* の実験系を用いて明らかにした。この多能性状態の転換は、*in vivo* の胚発生では着床前後のエピプラストで起きると考えられている。そこで、着床前後のマウス胚を取得し、さらにそれらからエピプラスト、胚体外外胚葉、胚体外内胚葉等の各胚組織を分離し、RNA-Seqによって遺伝子発現解析を行った。興味深いことに、着床の時期に相当する受精後4.5日胚を境にして、遺伝子発現の大規模変動が起きることが明らかとなり、*in vitro* で見られた現象を *in vivo* でも確認することが出来た。さらに、この着床期に特異的な遺伝子発現変動を制御する機構を探る一環として、DNAメチル化に着目し、DNAメチル化の維持に必須なDnmt1遺伝子のノックアウト胚(6.5日)から各組織を分離し、DNAメチル化の重要性を調べた。実際に、変異胚では、ゲノムワイドのDNAメチル化の低下が観察されたが、驚くべきことに、遺伝子発現プロファイル自体に大規模な変化は見られず、発現変動に対するDNAメチル化の関与は大きくないことが示された。しかしながら、DNAメチル化は組織アイデンティティの保持に必要であること、さらに将来の組織形成に重要な役割を果たす遺伝子の発現を特異的に調節していることが初めて明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Chang Y-H, Abe K, Yokota H, Sudo K, Nakamura Y, Tsai M-D	4. 巻 31
2. 論文標題 Human induced pluripotent stem cell region detection in bright-field microscopy images using convolutional neural networks.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedical Engineering: applications, basis and communications	6. 最初と最後の頁 1950009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4015/S1016237219500091	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 該当する
1. 著者名 Taelman J, Popovic M, Bialecka M, Tilleman L, Warrier S, Van Der Jeught M, Menten B, Deforce D, Sutter P DE, Nieuwerburgh V, Abe K, Heindryckx B, Chuva de Sousa Lopes SM	4. 巻 28
2. 論文標題 WNT inhibition and increased FGF signalling promotes derivation of less heterogeneous primed human embryonic stem cells, compatible with differentiation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cells and Development	6. 最初と最後の頁 579-592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2018.0199	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 該当する
1. 著者名 Shiura H, Abe K	4. 巻 9
2. 論文標題 Xist/Tsix expression dynamics during mouse peri-implantation development revealed by whole-mount 3D RNA-FISH.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 3637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-38807-0	査読の有無 無
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 Shiura H, Abe K	4. 巻 9
2. 論文標題 Xist/Tsix expression dynamics during mouse peri-implantation development revealed by whole-mount 3D RNA-FISH.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Report	6. 最初と最後の頁 3637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-38807-0	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 Wang Wenlong, Ito Tomohiro, Otsuka Satoshi, Nansai Hiroko, Abe Kuniya, Nakao Yoichi, Ohgane Jun, Yoneda Minoru, Sone Hideko	4. 巻 75
2. 論文標題 Epigenetic effects of insecticides on early differentiation of mouse embryonic stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxicology in Vitro	6. 最初と最後の頁 105174 ~ 105174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tiv.2021.105174	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 Li Yue, Fujiwara Kazumichi, Osada Naoki, Kawai Yosuke, Takada Toyoyuki, Kryukov Alexey P., Abe Kuniya, Yonekawa Hiromichi, Shiroishi Toshihiko, Moriwaki Kazuo, Saitou Naruya, Suzuki Hitoshi	4. 巻 126
2. 論文標題 House mouse <i>Mus musculus</i> dispersal in East Eurasia inferred from 98 newly determined complete mitochondrial genome sequences	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Heredity	6. 最初と最後の頁 132 ~ 147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41437-020-00364-y	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 Mito Mari, Kadota Mitsutaka, Tanaka Kaori, Furuta Yasuhide, Abe Kuniya, Iwasaki Shintaro, Nakagawa Shinichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Cell Type-Specific Survey of Epigenetic Modifications by Tandem Chromatin Immunoprecipitation Sequencing	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-19494-9	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 Kondo Masayo, Sugimoto Michihiko, Abe Kuniya	4. 巻 46
2. 論文標題 A Simplified and Efficient Protocol for Derivation and Maintenance of High-Quality Mouse Primed Pluripotent Stem Cells Using Wnt Inhibition	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Protocols in Stem Cell Biology	6. 最初と最後の頁 e60 ~ e60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cpsc.60	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 Hosoi Yusuke, Soma Miki, Shiura Hirosuke, Sado Takashi, Hasuwa Hidetoshi, Abe Kuniya, Kohda Takashi, Ishino Fumitoshi, Kobayashi Shin	4. 巻 9
2. 論文標題 Female mice lacking Ftx lncRNA exhibit impaired X-chromosome inactivation and a microphthalmia-like phenotype	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3829
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-06327-6	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 Shiura Hirosuke, Sakata Yuka, Abe Kuniya, Sado Takashi	4. 巻 1861
2. 論文標題 RNA-FISH and Immunofluorescence of Mouse Preimplantation and Postimplantation Embryos	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 161 ~ 176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8766-5_13	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 Kamatani Takashi, Hagizawa Hiroki, Yarimitsu Seido, Morioka Miho, Koyamatsu Saeko, Sugimoto Michihiko, Kodama Joe, Yamane Junko, Ishiguro Hiroyuki, Shichino Shigeyuki, Abe Kuniya, Fujibuchi Wataru, Fujie Hiromichi, Kaito Takashi, Tsumaki Noriyuki	4. 巻 284
2. 論文標題 Human iPS cell-derived cartilaginous tissue spatially and functionally replaces nucleus pulposus	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 121491 ~ 121491
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2022.121491	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 Chu Slo-Li, Abe Kuniya, Yokota Hideo, Cho Dooseon, Chen Yuan-Hao, Tsai Ming-Dar	4. 巻 -
2. 論文標題 High Resolution U-Net for Quantitatively Analyzing Early Spatial Patterning of Human Induced Pluripotent Stem Cells on Micropatterns	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The 43rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/EMBC46164.2021.9630956	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 Yokota Hideo, Abe Kuniya, Chang Yuan-Hsiang, Cho Dooseon, Tsai Ming- Dar, Huang Pin-Han	4. 巻 -
2. 論文標題 Visualization and quantitative analyses for mouse embryonic stem cell tracking by manipulating hierarchical data structures using time-lapse confocal microscopy images	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The 43rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/EMBC46164.2021.9629490	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6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Tada Y, Bottcher M, Kondo M, Ura H, Carninci P, Carninci P, Abe K
2. 発表標題 Single cell transcriptome analyses reveal novel intermediate pluripotent states during transition from naive to primed pluripotent stem cells
3. 学会等名 EMBO Workshop Single Cell Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉本道彦、阿部訓也
2. 発表標題 マウス初期発生過程におけるGARP complexの役割
3. 学会等名 2019年度モロシヌス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田多祐喜、志浦寛相、阿部訓也
2. 発表標題 着床前後のマウス胚におけるトランスクリプトーム動態解析とDNAメチル化の役割 Transcriptome dynamics and DNA methylation in mouse peri-implantation embryos
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tada Y, Bottcher M, Kondo M, Ura H, Carninci P, Carninci P, Abe K
2. 発表標題 Single cell transcriptome analyses reveal novel intermediate pluripotent states during transition from naive to primed pluripotent stem cells
3. 学会等名 EMBO Workshop Single Cell Biology (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉本道彦、阿部訓也
2. 発表標題 マウス初期発生過程におけるGARP complexの役割
3. 学会等名 モロシヌス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田夢祐喜、志浦寛相、阿部訓也
2. 発表標題 着床前後のマウス胚におけるトランスクリプトーム動態解析とDNAメチル化の役割 Transcriptome dynamics and DNA methylation in mouse peri-implantation embryos
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 細胞の標識方法	発明者 杉本道彦、阿部訓也	権利者 理化学研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-016576	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

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
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------