

研究題目 新規ヒストン H3 バリエーション遺伝子群の機能解析

研究組織

研究代表者：大川恭行（九州大学生体防御医学研究所）

共同研究者：竹本龍也（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

本研究では、昨年度より引き続き組織特異的なエピゲノム解析を進め、その全容解明を目指した。新規ヒストン H3 バリエーション遺伝子群の機能解析をノックアウトマウスに加えてノックインマウスの作製により進め、昨年度明らかになった新規ヒストンバリエーションについても解析を進め、ヒストン置換による遺伝子発現制御の全貌解明を行っていくこととした。

[1-2]研究の方法・経過

解析対象として以下のヒストンバリエーションの KO マウスを C57/BL6 を用いてゲノム編集技術 Crispr/Cas9 により作成を行った。竹本グループにより開発された高効率に受精卵でゲノム編集を行う手法により 14 種類の個々のヒストン H3 バリエーション遺伝子を個別に破壊した 14 ラインを樹立した。1 細胞オミクスの手法により多面的に表現型解析を行った。マウスの樹立を徳島大学で行い、解析を九州大学生体防御医学研究所にて行った。また、本年度はその解析に必要な技術開発も並行して行った。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

昨年度に引きつづいて解析を行い、(1)クロマチンに取り込まれない新たなヒストンバリエーションの解析を進めた（投稿準備中）。

(2) また、これまで作成した全マウスの解析結果を統合した（投稿準備中）。同時に、極めて少数の細胞を用いてエピゲノム情報を取得できる「クロマチン挿入標識（Chromatin Integration Labeling: ChIL）」法を開発した (Nat Cell Biol., 2019)。本手法は、細胞を破壊することなしに、任意の転写因子やヒストン修飾などが存在する領域の塩基配列を増幅することができる。また、高感度での解析ができるため、遺伝子発現を制御する転写因子の結合位置やヒストン修飾を単一の細胞で測定することが可能になった。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本研究の進展に伴いヒストン遺伝子の生物学的意義の全貌が明らかになりつつある。また、同時に必要となる技術開発を行うことが可能になったため、手法より深い解析が進みつつある。特に本研究により開発された手法は、胚発生や細胞分化の制御機構など生命現象を制御する分子機構の解明に極めて有用であるとともに、がん研究・再生医療などへの応用が広く期待される。今後の継続的な研究により更なる成果を期したい。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

1) [雑誌] 著者名. 題名. 雑誌名 巻：頁 - 頁, 発行年.

1. Yokota K, Kubota K, Kobayakawa K, Saito T, Hara M, Kijima K, Maeda T, Katoh H, Ohkawa Y, Nakashima Y, Okada S. Pathological changes of distal motor neurons after complete spinal cord injury. *Mol Brain*. 12(1), 2019.
 2. Harada A, Maehara K, Handa T, Arimura Y, Nogami J, Hayashi-Takanaka Y, Shirahige K, Kurumizaka H, Kimura H, Ohkawa Y. A chromatin integration labelling method enables epigenomic profiling with lower input. *Nat Cell Biol*. 2019.
 3. Shima Y, Miyabayashi K, Sato T, Suyama M, Ohkawa Y, Doi M, Okamura H, Suzuki K. Fetal Leydig cells dedifferentiate and serve as adult Leydig stem cells. *Development*. 145(23), 2018.
 4. Matsuda A, Asada Y, Suita N, Iwamoto S, Hirakata T, Yokoi N, Ohkawa Y, Okada Y, Yokomizo T, Ebihara N. Transcriptome profiling of refractory atopic keratoconjunctivitis by RNA sequencing. *J Allergy Clin Immunol*. 2018.
 5. Baba T, Otake H, Inoue M, Sato T, Ishihara Y, Moon JY, Tsuchiya M, Miyabayashi K, Ogawa H, Shima Y, Wang L, Sato R, Yamazaki T, Suyama M, Nomura M, Choi MH, Ohkawa Y, Morohashi KI. Ad4BP/SF-1 regulates cholesterol synthesis to boost the production of steroids. *Commun Biol*. 1, 2018.
 6. Takashima Y, Horisawa K, Uono M, Ohkawa Y, Suzuki A. Prolonged inhibition of hepatocellular carcinoma cell proliferation by combinatorial expression of defined transcription factors. *Cancer Sci*. 2018.
 7. Arimura Y, Ikura M, Fujita R, Noda M, Kobayashi W, Horikoshi N, Sun J, Shi L, Kusakabe M, Harata M, Ohkawa Y, Tashiro S, Kimura H, Ikura T, Kurumizaka H. Cancer-associated mutations of histones H2B, H3.1 and H2A.Z.1 affect the structure and stability of the nucleosome. *Nucleic Acids Res*. 2018.
 8. Luo D, Kato D, Nogami J, Ohkawa Y, Kurumizaka H, Kono H. MNase, as a probe to study the sequence-dependent site exposures in the +1 nucleosomes of yeast. *Nucleic Acids Res*. 2018.
 9. Sugimoto N, Maehara K, Yoshida K, Ohkawa Y, Fujita M. Genome-wide analysis of the spatiotemporal regulation of firing and dormant replication origins in human cells. *Nucleic Acids Res*. 2018.
 10. Kita Y, Katayama Y, Shiraishi T, Oka T, Sato T, Suyama M, Ohkawa Y, Miyata K, Oike Y, Shirane M, Nishiyama M, Nakayama KI. The Autism-Related Protein CHD8 Cooperates with C/EBP β to Regulate Adipogenesis. *Cell Rep*. 23(7), 2018.
 11. Harada A, Maehara K, Ono Y, Taguchi H, Yoshioka K, Kitajima Y, Xie Y, Sato Y, Iwasaki T, Nogami J, Okada S, Komatsu T, Semba Y, Takemoto T, Kimura H, Kurumizaka H, Ohkawa Y. Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration. *Nat Commun*. 9(1), 2018.
- 2) [書籍] 著者名. 題名. 編集者名・編 書籍名. 出版社, 発行地, 頁-頁, 発行年
1. 小松 哲郎, 大川 恭行
クロマチン構造が規定する骨格筋分化. *実験医学* 2018年増刊号
Vol. 36No. 7 : 102-106
- [3-2] 学会発表
- 1) 発表者名. 題名. 学会名, 発表地, 発表月日, 発表年
 1. Yasuyuki Ohkawa. Chromatin Integration Labeling- an Epigenomic Profiling for Single Cell Analysis. Cell Symposium: Single Cells: Technology to Biology. 2019. Singapore.
 2. Yasuyuki Ohkawa. Histone H3.3 sub-variants are required for regulating skeletal muscle differentiation. 2018 Federation of American Societies for Experimental Biology (FASEB). 2018.9. Via del Cavallaccio, 36, 50142 Firenze FI, Italy.
 3. Yasuyuki Ohkawa. ChiLT-an Epigenomic Profiling for Single Cell Analysis. Gordon Research Conference 「Chromatin Encounters Shaping Genome Architecture and Function」. 2018. USA.
 4. Yasuyuki Ohkawa. Low-input Epigenomic Profiling Technology toward Identifying Myogenic Chromatin Structure. Muscle Development, Regeneration and Disease 2018. Germany.
- 【4】 今後の課題等
極めて順調に推移しており、継続的な研究の進展を期したい。