

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

本研究は、開始して3年目になる。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、既に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

昨年度は、新たなヒストンの同定にも成功し、今年度より新たな解析対象を追加している。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 により作成した。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。これらは徳島大学にて飼育されオミクス解析に供与されてきた。特に 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。マウスの樹立から、解析までを九州大学生体防御医学研究所にて体系的に行った。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

昨年度に引き解析を行っており、クロマチンに取り込まれないヒストンバリエーション H3mm18, H3mm15 の解析を進めた（投稿準備中）。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）」法を発展させた multi-tg ChIL を開発し

た（投稿中）。本手法は、細胞を破壊することなく、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、複数抗体を用いて解析ができるため、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考えられ今後も継続的な成果発表を期したい。

【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. Oka M, Mura S, Otani M, Miyamoto Y, Nogami J, Maehara K, Harada A, Tachibana T, Yoneda Y, Ohkawa Y. Chromatin-bound CRM1 recruits SET-Nup214 and NPM1c onto HOX clusters causing aberrant HOX expression in leukemia cells. *Elife* 8. pii: e46667. 2019.
2. Yamaguchi T, Ikeda Y, Tashiro K, Ohkawa Y, Kawabata K. The role of galanin in the differentiation of mucosal mast cells in mice. *Eur J Immunol*. 9. 2019.
3. Akieda Y, Ogamino S, Furuie H, Ishitani S, Akiyoshi R, Nogami J, Masuda T, Shimizu N, Ohkawa Y, Ishitani T. Cell competition corrects noisy Wnt morphogen gradients to achieve robust patterning in the zebrafish embryo.

- Nat Commun.* 10(1):4710. 2019.
4. Fukuda S, Kaneshige A, Kaji T, Noguchi YT, Takemoto Y, Zhang L, Tsujikawa K, Kokubo H, Uezumi A, Maehara K, Harada A, Ohkawa Y, Fukada SI. Sustained expression of HeyL is critical for the proliferation of muscle stem cells in overloaded muscle. *Elife* 8. pii: e48284. 2019.
 5. Abdalla MOA, Yamamoto T, Maehara K, Nogami J, Ohkawa Y, Miura H, Poonperm R, Hiratani I, Nakayama H, Nakao M, Saitoh N. The Eleanor ncRNAs activate the topological domain of the ESR1 locus to balance against apoptosis. *Nat Commun.* 10(1):3778. 2019.
 6. Sato S, Arimura Y, Kujirai T, Harada A, Maehara K, Nogami J, Ohkawa Y, Kurumizaka H. Biochemical analysis of nucleosome targeting by Tn5 transposase. *Open Biol.* 9(8):190116. 2019.
 7. Konno D, Kishida C, Maehara K, Ohkawa Y, Kiyonari H, Okada S, Matsuzaki F. Dmrt factors determine the positional information of cerebral cortical progenitors via differential suppression of homeobox genes. *Development* 146(15). pii: dev174243. 2019.
 8. Witwicka H, Nogami J, Syed SA, Maehara K, Padilla-Benavides T, Ohkawa Y, Imbalzano AN. Calcineurin Broadly Regulates the Initiation of Skeletal Muscle-Specific Gene Expression by Binding Target Promoters and Facilitating the Interaction of the SWI/SNF Chromatin Remodeling Enzyme. *Mol Cell Biol.* 39(19). pii: e00063-19. 2019.
 9. Sorida M, Hirauchi T, Ishizaki H, Kaito W, Shimada A, Mori C, Chikashige Y, Hiraoka Y, Suzuki Y, Ohkawa Y, Kato H, Takahata S, Murakami Y. Regulation of ectopic heterochromatin-mediated epigenetic diversification by the JmjC family protein Epe1. *PLoS Genet.* 15(6):e1008129. 2019.
 10. Araki M, Kurihara M, Kinoshita S, Awane R, Sato T, Ohkawa Y, Inoue YH. Anti-tumour effects of antimicrobial peptides, components of the innate immune system, against haematopoietic tumours in *Drosophila mxc* mutants. *Dis Model Mech.* 12(6). pii: dmm037721. 2019.
 11. Miki M, Oono T, Fujimori N, Takaoka T, Kawabe K, Miyasaka Y, Ohtsuka T, Saito D, Nakamura M, Ohkawa Y, Oda Y, Suyama M, Ito T, Ogawa Y. CLEC3A, MMP7, and LCN2 as novel markers for predicting recurrence in resected G1 and G2 pancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer Med.* 8(8):3748-3760. 2019.
 12. Kobayakawa K, Ohkawa Y, Yoshizaki S, Tamaru T, Saito T, Kijima K, Yokota K, Hara M, Kubota K, Matsumoto Y, Harimaya K, Ozato K, Masuda T, Tsuda M, Tamura T, Inoue K, Edgerton VR, Iwamoto Y, Nakashima Y, Okada S. Macrophage centripetal migration drives spontaneous healing process after spinal cord injury. *Sci Adv.* 5(5):eaav5086. 2019.
- [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. 大川恭行. 遺伝子の発現されやすさはどのように決まるのか? ~クロマチンが規定する遺伝子発現制御能力~. 第42回日本分子生物学会年会. 2019. 福岡.
 2. 大川恭行. Development of chromatin integration labeling technology for single cell multiomics. 第42回日本分子生物学会年会. 2019. 福岡.
 3. Kazumitsu Maehara, Yasuyuki Ohkawa. Towards extracting chromatin dynamics from single-cell measurements. 第42回日本分子生物学会年会. 2019. 福岡.
 4. 大川恭行. クロマチン挿入法による単一細胞エピゲノム解析 日本人類遺伝学会第64回大会. 2019. 長崎.
 5. Yasuyuki Ohkawa. Chromatin integration labelling Technology for expanding multi-omics. EMBO Symposia:Multi-Omics. 2019. Germany.
 6. Yasuyuki Ohkawa. Modification-Specific Intracellular Antibodies for Monitoring Histone Modification and Transcription In Vivo. Epibio2019. 2019. Spain.
 7. 大川恭行. Chromatin integration labelling technology for expanding multi-omics. 第13回国際ゲノム会議. 2019. 東京.
- 【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。