

研究題目 新規ヒストン H3 バリエント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4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 バリエント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ント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ントの 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 バリエント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ント H3mm18, H3mm15 の解析を終えた（投稿中）。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(Nat

Protoc. 2020)。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. Qianmei Wu, Takeru Fujii, Akihito Harada, Kosuke Tomimatsu, Atsuko Miyawaki-Kuwakado, Masatoshi Fujita, Kazumitsu Maehara, Yasuyuki Ohkawa. Genome-wide analysis of chromatin structure changes upon MyoD binding in proliferative myoblasts during the cell cycle. *J Biochem*. 2021.
2. Isao Tamura, Ryo Maekawa, Kosuke Jozaki, Yasuyuki Ohkawa, Haruka Takagi, Yumiko Doi-Tanaka, Yuichiro Shirafuta, Yumiko Mihara, Toshiaki Taketani, Shun Sato, Hiroshi Tamura, Norihiro Sugino. Transcription factor C/EBP β induces genome-wide H3K27ac and upregulates gene expression during decidualization of human endometrial stromal cells. *Mol Cell Endocrinol* 520:111085, 2021.
3. Yuki Sakamoto, Mayuko Sato, Yoshikatsu Sato,

- Akihito Harada, Takamasa Suzuki, Chieko Goto, Kentaro Tamura, Kiminori Toyooka, Hiroshi Kimura, Yasuyuki Ohkawa, Ikuko Hara-Nishimura, Shingo Takagi, Sachihiko Matsunaga. Subnuclear gene positioning through lamina association affects copper tolerance. *Nat Commun.* 11:5914, 2020.
4. Hiroki Inada, Miyako Udonon, Kanae Matsuda-Ito, Kenichi Horisawa, Yasuyuki Ohkawa, Shizuka Miura, Takeshi Goya, Junpei Yamamoto, Masao Nagasaki, Kazuko Ueno, Daisuke Saitou, Mikita Suyama, Yoshihiko Maehara, Wataru Kumamaru, Yoshihiro Ogawa, Sayaka Sekiya, Atsushi Suzuki. Direct reprogramming of human umbilical vein- and peripheral blood-derived endothelial cells into hepatic progenitor. *Cells. Nat Commun*, 11:5292, 2020.
 5. Tomoko Yamaguchi, Yumi Ikeda, Katsuhisa Tashiro, Yasuyuki Ohkawa, Kenji Kawabata. The role of galanin in the differentiation of mucosal mast cells in mice. *Eur J Immunol.* 50:110-118. 2020.
 6. Junichiro Yuda, Jun Odawara, Mariko Minami, Tsuyoshi Muta, Kentaro Kohno, Kazuki Tanimoto, Tetsuya Eto, Takahiro Shima, Yoshikane Kikushige, Koji Kato, Katsuto Takenaka, Hiromi Iwasaki, Yosuke Minami, Yasuyuki Ohkawa, Koichi Akashi, Toshihiro Miyamoto. Tyrosine kinase inhibitors induce alternative spliced BCR-ABL Ins35bp variant via inhibition of RNA polymerase II on genomic BCR-ABL. *Cancer Sci.* 111:2361-2373. 2020.
 7. Kenichi Horisawa, Miyako Udonon, Kazuko Ueno, Yasuyuki Ohkawa, Masao Nagasaki, Sayaka Sekiya, Atsushi Suzuki. The Dynamics of Transcriptional Activation by Hepatic Reprogramming Factors. *Mol Cells* 79:660-676. 2020.
 8. Tomoko Yamaguchi, Yumi Ikeda, Katsuhisa Tashiro, Yasuyuki Ohkawa, Kenji Kawabata. The role of galanin in the differentiation of mucosal mast cells in mice. *Eur J Immunol*, 50:110-118. 2020.
 9. Hiroshi Ochiai, Tetsutaro Hayashi, Mana Umeda, Mika Yoshimura, Akihito Harada, Yukiko Shimizu, Kenta Nakano, Noriko Saitoh, Zhe Liu, Takashi Yamamoto, Tadashi Okamura, Yasuyuki Ohkawa, Hiroshi Kimura, Itoshi Nikaido. Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. *Sci Adv.* 6:eaaz6699. 2020.
 10. †Tetsuya Handa, Akihito †Harada, Kazumitsu Maehara†, Shoko Sato, Masaru Nakao, Naoki Goto, Hitoshi Kurumizaka, Yasuyuki Ohkawa, Hiroshi Kimura. Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input. *Nat Protoc.* 15:3334-3360. 2020.
 11. Misuzu Kurihara, Kagayaki Kato, Chiaki Sanbo, Shuji Shigenobu, Yasuyuki Ohkawa, Takeshi Fuchigami, Yusuke Miyanari. Genomic Profiling by ALaP-Seq Reveals Transcriptional Regulation by PML Bodies Through DNMT3A Exclusion. *Mol Cell.* 78:493-505.e8. 2020.
 12. Junichiro Yuda, Jun Odawara, Mariko Minami, Tsuyoshi Muta, Kentaro Kohno, Kazuki Tanimoto, Tetsuya Eto, Takahiro Shima, Yoshikane Kikushige, Koji Kato, Katsuto Takenaka, Hiromi Iwasaki, Yosuke Minami, Yasuyuki Ohkawa, Koichi Akashi, Toshihiro Miyamoto. TKIs Induce Alternative Spliced BCR-ABL Ins35bp Variant via Inhibition of RNA Polymerase II on Genomic BCR-ABL. *Cancer Sci.* 2020.
- [3-2]学会発表
1. 大川恭行. 単一細胞マルチオミクスに向けたクロマチン挿入標識法の開発. 第19回日本再生医療学会総会. 2020. WEB開催
 2. 大川恭行. Chromatin integration labeling Technology for expanding multi-omics. 理研エピゲノム操作プロジェクトセミナー. 2020. WEB開催
 3. 大川恭行. トランスクリプトミクスによる骨格筋細胞分化能の解明. 第19回日本再生医療学会総会. 2020. WEB開催
 4. 大川恭行. クロマチンダイナミクスの理解に向けた同時マルチオミクスの開発. 第43回日本分子生物学会. 2020. WEB開催
 5. 大川恭行. 『配偶子インテグリティの構築』『全能性プログラム』合同公開シンポジウム 2020. 2021. WEB開催
 6. 大川恭行. 第8回骨格筋生物学会. 2021. WEB開催
- 【4】今後の課題等**
 今後の課題、その他等
 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。