

## 研究題目 共同利用 A-3 ゲノム編集マウス作製

### 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）。ヒストンバリエント H3mm18 については、部分的に論部発表を行い(Nucleic Acids Res. 2021)、加えてマウス部分については別途執筆中である（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 ts ChIL を開発した(Mol Syst Biol. 2021)。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。更に空間オミクス技術 (Photo-Isolation Chemistry:PIC)を開発し、今後は組織な構造を保持した単一細胞オミクス開発にシフトしていく(Nat Commun., 2021)。

#### [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

- Hirai S, ..., \*Ohkawa Y, \*Kurumizaka H. Unusual nucleosome formation and transcriptome influence by the histone H3mm18 variant. *Nucleic Acids Res.* 50(1):72-91.
- Goya T, ..., Ohkawa Y, ..., Suzuki A. Direct Conversion of Human Endothelial Cells Into Liver Cancer-Forming Cells Using Nonintegrative Episomal Vectors. *Hepatol Commun.* 2022
- Uchino S, ..., Ohkawa Y, Tokunaga M, Kimura H.

- Live imaging of transcription sites using an elongating RNA polymerase II-specific probe. *J Cell Biol.* 221(2):e202104134. 2022
4. Kaneshige A, ..., Ohkawa Y, ..., Fukada SI. Relayed signaling between mesenchymal progenitors and muscle stem cells ensures adaptive stem cell response to increased mechanical load. *Cell Stem Cell.* 29(2):265-280.e6. 2022
  5. Harada A, Kimura H, \*Ohkawa Y. Recent advances in single-cell epigenomics. *Curr Opin Struct Biol.* 71:116-122. 2022
  6. Bartlett DA, ..., Ohkawa Y, ..., Gilbert DM. High-throughput single-cell epigenomic profiling by targeted insertion of promoters (TIP-seq). *J Cell Biol.* 220(12):e202103078. 2022
  7. Hayashi-Takanaka Y, ..., Ohkawa Y, ..., Hiraoka Y. Chromatin loading of MCM hexamers is associated with di-/tri-methylation of histone H4K20 toward S phase entry. *Nucleic Acids Res.* 49(21):12152-12166. 2022
  8. Fujii T, Maehara K, Fujita M, \*Ohkawa Y. Discriminative feature of cells characterizes cell populations of interest by a small subset of genes. *PLoS Comput Biol.* 17(11):e1009579. 2022
  9. Christianto A, ..., Ohkawa Y, Morohashi KI. Sex differences in metabolic pathways are regulated by Pfkfb3 and Pdk4 expression in rodent muscle. *Commun Biol.* 4(1):1264. 2022
  10. Katada S, ..., Ohkawa Y, ..., Nakashima K. Neural stem/precursor cells dynamically change their epigenetic landscape to differentially respond to BMP signaling for fate switching during brain development. *Genes Dev.* 35(21-22):1431-1444. 2022
  11. Maehara K, ..., Ohkawa Y. Modeling population size independent tissue epigenomes by ChIL-seq with single thin sections. *Mol Syst Biol.* 17(11):e10323. 2022
  12. Wu Q, ..., Ohkawa Y. Genome-wide analysis of chromatin structure changes upon MyoD binding in proliferative myoblasts during the cell cycle. *J Biochem.* 169(6):653-661. 2022
  13. Matsuzaki F, ..., Ohkawa Y, ..., Kubota H. An extensive and dynamic trans-omic network illustrating prominent regulatory mechanisms in response to insulin in the liver. *Cell Rep.* 36(8):109569. 2022
  14. Kamikaseda Y, ..., Ohkawa Y, ..., Fukui Y. Targeted inhibition of EPAS1-driven IL-31 production by a small-molecule compound. *J Allergy Clin Immunol.* 148(2):633-638. 2022
  15. Honda M, ..., \*Ohkawa Y. High-depth spatial transcriptome analysis by photo-isolation chemistry. *Nat Commun.* 12(1):4416. 2022
  16. Miyawaki-Kuwakado A, ..., \*Ohkawa Y. Transcriptome analysis of gene expression changes upon enzymatic dissociation in skeletal myoblasts. *Genes Cells.* 26(7):530-540. 2022
  17. Yoshioka K, ..., Ohkawa Y, Ono Y. Hoxa10 mediates positional memory to govern stem cell function in adult skeletal muscle. *Sci Adv.* 7(24):eabd7924. 2022
  18. Maemura M, ..., Ohkawa Y, Tsukada YI. Totipotency of mouse zygotes extends to single blastomeres of embryos at the four-cell stage. *Sci Rep.* 11(1):11167. 2022
  19. Tachiwana H, ..., Ohkawa Y, ..., Saitoh N. Chromatin structure-dependent histone incorporation revealed by a genome-wide deposition assay. *Elife.* 10:e66290. 2022
- [3-2] 学会発表
1. 大川恭行. 骨格筋再性能を制御するクロマチン構造等その破綻. 2020. WEB 開催  
第94回日本生化学会大会, WEB 開催.
  2. 大川恭行. 空間マルチオミクスの展開～エピゲノム, トランスクリプトームからプロテオームの空間計測の試み～. がん研セミナー, 東京. 2020. 大川 恭行. (2021)
  3. Yasuyuki Ohkawa “ Identification and Analysis of Minor Histone Variants”. EMBO Workshop Physiology and function of histone variants, 2020. 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。