

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6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、加えてヒストン総量を調整するモデル解析を進め、ヒストン置換・量的制御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

昨年度に引き続き、新たなヒストンバリエントの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 種類のヒストン H3 バリエント遺伝子をすべて破壊するマウスの作出を試みている。また、ヒストン遺伝子の発現量をコントロールするラインの樹立を進めている。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ている。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ており現在解析中である。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

昨年度に引き続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 H3mm15 の解析を終えた。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）」法を発展させた単一細胞ハイスループット ChILseq 法を開発した（投稿改訂中）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ハイスループット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. Egashira S, Tachibana T, Nakamura M, Ohkawa Y, Harada A. Production of a Monoclonal Antibody for Histone H2b Isoform H2b3b. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*. 2024.
2. Ishii S, Kakizuka T, Park SJ, Tagawa A, Sanbo C, Tanabe H, Ohkawa Y, Nakanishi M, Nakai K, Miyanari Y. Genome-wide ATAC-seq screening identifies TFDPI as a modulator of global chromatin accessibility. *Nat Genet*. 2024.
3. Nishimura M, Fujii T, Tanaka H, Maehara K, Morishima K, Shimizu M, Kobayashi Y,

Nozawa K, Takizawa Y, Sugiyama M, Ohkawa Y, Kurumizaka H. Genome-wide mapping and cryo-EM structural analyses of the overlapping tri-nucleosome composed of hexasome-hexasome-octasome moieties.

Commun Biol. 61. 2024.

4. Hirai S, Kujirai T, Akatsu M, Ogasawara M, Ehara H, Sekine SI, Ohkawa Y, Takizawa Y, Kurumizaka H. Cryo-EM and biochemical analyses of the nucleosome containing the human histone H3 variant H3.8. **J Biochem.** 26:mvad069. 2023
5. Oka M, Otani M, Miyamoto Y, Oshima R, Adachi J, Tomonaga T, Asally M, Nagaoka Y, Tanaka K, Toyoda A, Ichikawa K, Morishita S, Isono K, Koseki H, Nakato R, Ohkawa Y, Yoneda Y. Phase-separated nuclear bodies of nucleoporin fusions promote condensation of MLL1/CRM1 and rearrangement of 3D genome structure. **Cell Rep.** 42(8):112884. 2023.
6. Fujinuma S, Nakatsumi H, Shimizu H, Sugiyama S, Harada A, Goya T, Tanaka M, Kohjima M, Takahashi M, Izumi Y, Yagi M, Kang D, Kaneko M, Shigeta M, Bamba T, Ohkawa Y, Nakayama KI. FOXK1 promotes nonalcoholic fatty liver disease by mediating mTORC1-dependent inhibition of hepatic fatty acid oxidation. **Cell Rep.** 42(5):112530. 2023.
7. Nagasaki M, Sekiya Y, Asakura A, Teraoka R, Otokozawa R, Hashimoto H, Kawaguchi T, Fukazawa K, Inadomi Y, Murata KT, Ohkawa Y, Yamaguchi I, Mizuhara T, Tokunaga K, Sekiya Y, Hanawa T, Yamada R, Matsuda F. Design and implementation of a hybrid cloud system for large-scale human genomic research. **Hum Genome Var.** 0(1):6. 2023.
8. Moiseeva V, Cisneros A, Sica V, Deryagin O, Lai Y, Jung S, Andrés E, An J, Segalés J, Ortet L, Lukesova V, Volpe G, Benguria A, Dopazo A, Benitah SA, Urano Y, Del Sol A, Esteban MA, Ohkawa Y, Serrano AL, Perdiguero E, Muñoz-Cánoves P. Senescence atlas reveals an aged-like inflamed niche that blunts muscle regeneration. **Nature,** 613(7942):169-178. 2023.

[3-2]学会発表

1. 大川恭行,組織形成を理解するための単一細胞マルチオミクスの開発,第46回日本分子生物学会,2023/11/28,オンライン.

2. Yasuyuki Ohkawa,Developing single-cell multi-omics to understand tissue formation,サルコペニア研究会,2023/11/22,ソウル.
3. Yasuyuki Ohkawa,Comprehensive Analysis of Signal Transduction Activation Pathways through Sequential Immunostaining Single Cell Genomics Conference 2023,2023/10/10,Engelberg-Titlis Tourismus AG.
4. 大川恭行,遺伝子発現制御を包括的に解析する技術の開発,2023年度国立遺伝学研究所クロマチン研究会(NIG-JOINT),2023/10/4,静岡.
5. 大川恭行,組織形成を理解するための単一細胞マルチオミクスの開発,奈良県立医科大学講演,2023/10/4,奈良.
6. 大川恭行,トランスクリプトミクスによる筋再生過程の高深度解析,第9回日本筋学会学術集会/第10回筋ジストロフィー医療研究会,2023/8/19,大阪.
7. 大川恭行,組織形成を理解するための単一細胞マルチオミクスの開発,<MBL>第34回高遠シンポジウム,2023/8/28,東京.
8. 大川恭行,骨格筋幹細胞の運命決定を遺伝子発現制御から理解する～単一細胞エピゲノム解析から空間マルチオミクスへの展開～生物科学セミナー,2023/5/17,東京.
9. Yasuyuki Ohkawa,Development of spatial multi-omics for understanding skeletal muscle aging 1st Symposium on "Skeletal muscle cells in Growth and Disease",2023/5/1,大阪.

【4】今後の課題等

特になし