

## 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、組織特異的なエピゲノム解析を進め、その全容解明を目的とした。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を進めた。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容解明を行っていくこととした。

#### [1-2]研究の方法・経過

ヒストンバリエーションが組織に与える影響を解明するため、昨年度に引き続き C57/BL6 を用いてヒストンバリエーション KO マウスの作製を継続した。ま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 バリエーション遺伝子をすべて破壊するマウスの作出を現在も継続している。併行してカノニカルヒストン遺伝子の発現量をコントロールするマウスラインの樹立を進めている。これらは徳島大学にて樹立・飼育され、多面的な表現型解析を九州大学生体防御医学研究所で体系的に行っている。上記に加え、本年度はその解析に必要な新規技術開発を行った。

### 【2】研究成果

#### [2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

引き続き解析を行っているヒストンバリエーション KO マウスのうち、精巣特異的に発現する H3t の解析を完了し、論文を発表した (Wu et al., *Genes Cells* 2025)。またクロマチンに取り込まれないヒストンバリエーション H3mm15 の解析も完了し現在論文を投稿中である。同時に、1 細胞解像度で細胞のヒストン修飾やタンパク質発現を解析する新規の空間オミクス手法を開発し論文を発表した (Tomimatsu et al., *Nat Commun* 2024)。

カノニカルヒストン遺伝子の発現量をコントロールするマウスについては、ヒストン遺伝子クラスター領域をいくつかのパターンで flox

し、組換え酵素である Cre recombinase の発現によってカノニカルヒストン遺伝子のコピー数を減らすマウス構築を達成した。

#### [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、カノニカルヒストン遺伝子やそのバリエーションの生物学的意義の全貌が明らかになりつつある。とりわけヒストンは遺伝子発現制御と直接的な関係にあり、その機能解明は生物学的なインパクトをもたらすことが予想されるため、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. Miyamoto T., Kuboyama K., Honda M., Ohkawa Y., Oki S., Sawamoto K. High spatial resolution gene expression profiling and characterization of neuroblasts migrating in the peri-injured cortex using photo-isolation chemistry. *Front Neurosci.* 7;18:1504047. 2025.
2. Aoki K., Higuchi T., Akieda Y., Matsubara K., Ohkawa Y., Ishitani T. Mechano-gradients drive morphogen-noise correction to ensure robust patterning. *Sci Adv.* 10(46):eadp2357. 2024.
3. Nakamura Y., Shimada IS., Maroofian R., Falabella M., Zaki MS., Fujimoto M., Sato E., Takase H., Aoki S., Miyauchi A., Koshimizu E., Miyatake S., Arioka Y., Honda M., Higashi T., Miya F., Okubo Y., Ogawa I., Scardamaglia A., Miryounesi M., Alijanpour S., Ahmadabadi F., Herkenrath P., Dafsari HS., Velmans C., Al Balwi M., Vitobello A., Denommé-Pichon A.S., Jeanne M., Civit A., Abdel-Hamid M.S., Naderi H., Darvish H., Bakhtiari S., Kruer M.C., Carroll C.J., Ghayoor Karimiani E., Khailany R.A., Abdulqadir T.A., Ozaslan M., Bauer P., Zifarelli G., Seifi T., Zamani M., Al Alam C., Alvi J.R., Sultan T., Efthymiou S., Pope S.A.S., Haginoya K., Matsunaga T., Osaka H., Matsumoto N., Ozaki N., Ohkawa Y., Oki S., Tsunoda T., Pitceathly R.D.S., Taketomi Y., Houlden H., Murakami M., Kato Y., Saitoh S. Biallelic null variants in PNPLA8 cause microcephaly by reducing the number of basal radial glia. *Brain.* 147(11):3949-3967. 2024.
4. Matsuoka R., Kitajima K., Nii T., Zou Z.,

- Tanaka K., Joo K., Ohkawa Y., Ohga S., Meno C. Hyperglycaemia induces diet-dependent defects of the left-right axis by lowering intracellular pH. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 1871(1):167550. 2024.
5. Tey S.R., Anderson R.S., Yu C.H., Robertson S., Kletzien H., Connor N.P., Tanaka K., Ohkawa Y., Suzuki M. Cellular and transcriptomic changes by the supplementation of aged rat serum in human pluripotent stem cell-derived myogenic progenitors. *Front Cell Dev Biol.* 12:1481491. 2024.
  6. Sakai H., Uno H., Yamakawa H., Tanaka K., Ikeda A., Uezumi A., Ohkawa Y., Imai Y. The androgen receptor in mesenchymal progenitors regulates skeletal muscle mass via Igf1 expression in male mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 121(39):e2407768121. 2024
  7. Olan I., Ando-Kuri M., Parry A.J., Handa T., Schoenfelder S., Fraser P., Ohkawa Y., Kimura H., Narita M., Narita M. HMGA1 orchestrates chromatin compartmentalization and sequesters genes into 3D networks coordinating senescence heterogeneity. *Nat Commun.* 15(1):6891. 2024.
  8. Yamasaki A., Imanishi I., Tanaka K., Ohkawa Y., Tsuda M., Masuda T. IRF8 and MAFB drive distinct transcriptional machineries in different resident macrophages of the central nervous system. *Commun Biol.* 7(1):896. 2024.
  9. Kitajima Y., Yoshioka K., Mikumo Y., Ohki S., Maehara K., Ohkawa Y., Ono Y. Loss of Tob1 promotes muscle regeneration through muscle stem cell expansion. *J Cell Sci. jcs.* 261886. 2024.
  10. Wakasa T., Nonaka K., Harada A., Ohkawa Y., Kikutake C., Suyama M., Kobunai T., Tsunekuni K., Matsuoka K., Kataoka Y., Ochiwa H., Miyadera K., Sagara T., Oki E., Ohdo S., Maehara Y., Iimori M., Kitao H. The anti-tumor effect of trifluridine via induction of aberrant mitosis is unaffected by mutations modulating p53 activity. *Cell Death Discov.* 10(1):307. 2024.
  11. Saito Y., Harada A., Ushijima M., Tanaka K., Higuchi R., Baba A., Murakami D., Nutt S.L., Nakagawa T., Ohkawa Y., Baba Y. Plasma cell differentiation is regulated by the expression of histone variant H3.3. *Nat Commun.* 15(1):5004. 2024.
  12. Abe K., Ino H., Niwa T., Semmy D., Takaochi A., Nishimura T., Mogi C., Uenaka M., Ishii M., Tanaka K., Ohkawa Y., Ishitani T. Sex-dependent regulation of vertebrate somatic growth and aging by germ cells. *Sci Adv.* 10(24):eadi1621. 2024
  13. Ohkawa Y., Harada A., Fujii T., Tomimatsu K., Kato M., Ito M., Maehara K., Sato S., Kurumizaka H., Sato Y., Kimura H. Tracking chromatin structure changes by single-cell multi-epigenomics with RNA polymerase II binding profiles. *Research Square.* 2024.
  14. Miura S., Horisawa K., Iwamori T., Tsujino S., Inoue K., Karasawa S., Yamamoto J., Ohkawa Y., Sekiya S., Suzuki A. Hepatocytes differentiate into intestinal epithelial cells through a hybrid epithelial/mesenchymal cell state in culture. *Nat Commun.* 15(1):3940. 2024
  15. Tomimatsu K., Fujii T., Bise R., Hosoda K., Taniguchi Y., Ochiai H., Ohishi H., Ando K., Minami R., Tanaka K., Tachibana T., Mori S., Harada A., Maehara K., Nagasaki M., Uchida S., Kimura H., Narita M., Ohkawa Y. Precise immunofluorescence canceling for highly multiplexed imaging to capture specific cell states. *Nat Commun.* 15(1):3657. 2024.
  16. Egashira S., Tachibana T., Nakamura M., Ohkawa Y., Harada A. Production of a Monoclonal Antibody for Histone H2b Isoform H2b3b. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother.* 43(2):75-80. 2024.
  17. Higuchi R., Tanaka K., Saito Y., Murakami D., Nakagawa T., Nutt S.L., Ohkawa Y., Baba Y. Type I interferon promotes the fate of Toll-like receptor 9-stimulated follicular B cells to plasma cell differentiation. *PNAS Nexus.* 3(4):pgae152. 2024.
  18. Egashira S., Tachibana T., Nakamura M., Ohkawa Y., Harada A. Monoclonal Antibody Rat 2F11 and Rabbit A3 Against Anti-H2b3b. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother.* 43(2):81-82. 2024.
  19. Wu Q., Ito M., Fujii T., Tanaka K., Nakatani K., Izumi K., Bamba T., Baba T., Maehara K., Tomimatsu K., Takemoto T., Ohkawa Y., Harada A. Defects in the H3t gene cause an increase in Leydig cells with impaired spermatogenesis in mice. *Genes to Cells.* 30:e13182, 2025.
- [3-2]学会発表
1. 大川 恭行 (2025/1/17) 一細胞マルチオミクスによる骨格筋分化制御機構の解明。(招待講演) 千里ライフサイエンスセミナーW5, 大阪
  2. Yasuyuki Ohkawa (2024/12/8-11) Single-cell multi-omics lineage tracing for fibroblasts. (Poster) Keystonesymposia, Whistler, Canada.
  3. Yasuyuki Ohkawa (2024/10/12-17) Single-cell multi-omics lineage tracing in skeletal muscle myogenesis. (Poster) ENBO Workshop, Sicily, Italy.
  4. 大川 恭行 (2024/9/5) 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。(招待講演) JASIS2024, 千葉.
  5. Yasuyuki Ohkawa (2024/6/7-11) Single-Cell Epigenome Lineage Tracing via RNA Pol II-defined Cell States. (Poster) Gordon Research Conference, Massachusetts, United States.
- 【4】今後の課題等  
特になし