

「統合1 細胞解析のための革新的技術基盤」
平成28年度採択研究代表者

H29年度 実績報告書

大川 恭行

九州大学生体防御医学研究所
教授

細胞ポテンシャル測定システムの開発

§ 1. 研究実施体制

(1) 大川グループ

- ① 研究代表者: 大川 恭行 (九州大学生体防御医学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・1細胞エピゲノム解析技術の開発と基盤解析

(2) 胡桃坂グループ

- ① 主たる共同研究者: 胡桃坂 仁志 (早稲田大学理工学術院 教授)
- ② 研究項目
 - ・1細胞エピゲノム解析技術の基盤研究およびマテリアル開発

(3) 木村グループ

- ① 主たる共同研究者: 木村 宏 (東京工業大学科学技術創成研究院 教授)
- ② 研究項目
 - ・1細胞エピゲノム解析技術の基盤研究およびマテリアル開発

§ 2. 研究実施の概要

本研究計画では1細胞エピゲノム解析実現のための技術開発ならびに改良を進めた。必要となる、1)技術の基盤となるクロマチン構造に関する専門的知見の集積、2)プローブの作出とそれを実現するための抗体開発、そして3)膨大な試行を実現するための反応に必要な酵素群の自家精製法の樹立の3項目に注力した。平成28年度に計画した必要な各種インフラ整備、予備実験に基づくロードマップ目標について全て達成した。特に1細胞レベルのエピゲノムプロファイリング技術の安定化を達成しておりプロトコールの公開準備を行っている。

1. ChILT法をベースとした1細胞エピゲノム解析技術の開発

エピゲノム解析に必要な抗体の作出を進めた。平成28年度にクローニングを成功した抗体のうちRNAポリメラーゼ等については、FabLEMやmintbody等の生体内での可視化への適応を進め、適応を評価している(発表準備中)。またChILTを初めとする微量エピゲノム解析の樹立に不可欠な膨大な試行による積み重ねを行った。うち100件については国際データベースに登録し制限付きながら公開を行った。特にH3K4m3をはじめとする各種ヒストン修飾について1細胞ChILTの解析に成功した。本研究開発成果は論文査読中である。

本研究開発推進の基盤となったのが全反応工程で必要となる酵素を組み換えタンパク質としての生産の樹立、ならびに個々の酵素の酵素活性を分子レベルでの検証であった。特にChILTの主反応をトランスポゼースの安定的な生産を確立し詳細な酵素活性評価を行った。

また、H29年度では反応の最適化のために必須であるクロマチンに関する構造学的解析、特にプローブへの干渉が想定されるヘテロクロマチン、ヒストン亜種等の高次クロマチン構造や未知クロマチン構成要素の生化学的解析、細胞生物学的解析、エピゲノム解析などを並行して行った(Harada A., Nat. Commun. 2018, Kato D., Science 2017, Machida S., Mol. Cell 2018)。また、既存のChIPseq法に基づく解析もヒト、マウス等の様々な細胞での解析を進めて適時成果発表を行って、リファレンスデータとして獲得し国際データベースへの登録を行った(Semba Y., Nucleic Acids Res. 2017)。

2. 1細胞エピゲノム解析による遺伝子発現予測技術の開発

予定通り、先行して自らあるいは公開されている1細胞RNAseqのデータを用いて、本技術の開発のための予備検討を行った。特に、骨格筋組織形成をモデルとした1細胞RNAseq技術を用いたリファレンスデータの獲得を行った。