

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. 研究成果の概要

2018 年次研究計画では 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。年次計画に従い 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となる酵素群の自家精製法の樹立を行い、各種技術開発を行った。2018 年次では 1 細胞エピゲノム解析では、単一細胞レベルでのエピゲノム解析が可能であることの実証に成功し、論文発表を行い詳細なプロトコールを公開した。本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、更なる改良に向けて取り組んだ。また、国内外の共同研究を行い、技術供与を進めた。

1. ChIL 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となる抗体については、昨年に引き続き mintbody を中心に生体内での可視化への適応を進め、適応を評価した(発表準備中)。また ChIL 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い、うち 189 件については国際データベースに登録し公開をした。これら知見の集積の下、H3K4me3 をはじめとする各種ヒストン修飾について 1 細胞 ChIL 法の解析に成功した。データ解析方法やクオリティコントロール等を含めた本研究開発の詳細を国際査読誌に論文発表を行った(Harada A. et al, Nat. Cell Biol. 2018)。また、詳細なプロトコールを Web 公開した(<https://www.nature.com/protocolexchange/protocols/7081>)。また、本成果は各種メディアに取り上げられた。

本研究開発推進の基盤は、チーム内で精製される全反応工程で必要となる酵素群である。安定的な供給を目指し、詳細な酵素活性の評価を進めている(発表準備中)。またこれら自家精製した酵素を国内外の共同研究推進に活用した。

2018 年次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、

エピゲノム解析に加えて、細胞ポテンシャルの基盤となる転写制御の構造的基盤の解明を行い論文発表した(Kujirai T. et al, Science. 2018 等)。また、リファレンスデータとして種々のエピゲノム解析を継続して行い合わせて論文発表を行った。

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、本技術の開発を進めた。開発したソフトウェア、論文は web 上で公開した(“Modeling latent flows on single cell RNA-seq data using the Hodge decomposition”)。また、同時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。

【代表的な原著論文】

1. Harada A, Maehara K, Handa T, Arimura Y, Nogami J, Hayashi-Takanaka Y, Shirahige K, Kurumizaka H, Kimura H, Ohkawa Y, “A chromatin integration labelling method enables epigenomic profiling with lower input”, *Nat Cell Biol*, 2018.
2. Kujirai T, Ehara H, Fujino Y, Shirouzu M, Sekine SI, Kurumizaka H, “Structural basis of the nucleosome transition during RNA polymerase II passage.”, *Science*, vol. 362, No. 6414, pp. 595-598, 2019

§ 2. 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 (東京大学定量生命科学研究所、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