

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

2019 年度では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の 3 項目を引き続き進め、そのうえで、細胞ポテンシャルを規定するクロマチン構造解析の解析と中核技術である ChIL 法を基軸に新たなプローブを作製し複数プローブでの解析を実用化する手法(multi-ChiL)の開発を行い達成した。また、1 細胞エピゲノム解析を汎用化に加え多角化するための技術の開発・改良をさらに進めた。トランスクリプトーム解析との同時解析技術やスループット向上のための基礎技術開発を行った。更に、組織レベルでの微量エピゲノム解析技術の確立を達成し、マウス組織を中心に ChIL 法の条件設定、解析条件の最適化をまとめた手法及び解析法について現在論文投稿中である。研究の進め方としては、代表者グループと分担者グループとの直接ミーティングを 3 か月に 1 度のペースで持ち、1 か月に一度は web 会議を行うことで、開発チームおよび参加メンバー間での設定目標の統一化を行いつつ開発に必要な連携を図ってきた。チーム間の連携は極めて良好且つ密接であり、それぞれの得意分野を生かした開発を継続して行った。詳細を以下に記す。

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

Multi-ChIL 法の開発を終え論文発表を達成した(Handa T. et al, Nat. Protocols, 2020)。特に本プロトコールではトラブルシューティングを含めた詳細なプロトコールを記載しており、今後の普及を後押しすることを期待している。更に、ChILを行う上で必要となるプローブの供給先として法人を設立し、プローブの供給体制を整備した。また、新たな技術として、トランスクリプトームとエピゲノムを同時解析可能な ChILseq2.0 の開発を行った(現在論文投稿準備中)。また、単一細胞エピゲノム解析法として課題であったスループットの向上についても新技術開発を行い(特許申請中)、現在実データの取得を進めている。本プロジェクトでは、これら技術開発に加えて、エピゲノム状態の解析を広く行うことで、エピゲノム計測に資する知見の集積を行っている。本年度も各チームにより積

極的な国際共同研究が行われ国際査読誌に論文を発表している。また、ChIL を用いたデータ解析も積極的に行ない 324 件のデータを国際データベースに登録し公開を行った。

チーム内で精製される全反応工程で必要となる酵素群の安定的な供給を目指し、詳細な酵素活性の評価を進めた。特にトランスポゼース Tn5 について詳細な評価を行いその知見を専門誌に報告した(発表準備中)。またこれら自家精製した酵素を共同研究を介し広く供給している。

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

昨年度より開発を行っているホッジ分解を用いた単一細胞データを解析する新手法については現在論文投稿中である。また新たに複数の情報解析手法の解析を進めた(投稿準備中)。

【代表的な原著論文】

1. *Handa T, *Maehara K, *Harada A, Sato S, Nakao M, Goto N, Kurumizaka H, #Ohkawa Y, #Kimura H, “A chromatin integration labelling method enables epigenomic profiling with lower input”, *Nat Protocols*, in press.
2. Shoko Sato, Yasuhiro Arimura, Tomoya Kujirai, Akihito Harada, Kazumitsu Maehara, Jumpei Nogami, Yasuyuki Ohkawa and Hitoshi Kurumizaka, “Biochemical analysis of nucleosome targeting by Tn5 transposase”, *Open Biology*, vol. 9, No. 8, 190116, 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 2019年9月末でERATOプロジェクト採択のため離脱

- 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

(2) 鯨井グループ 2019年10月より胡桃坂グループの後任として参画

- ① 主たる共同研究者: 鯨井 智也 (東京大学定量生命科学研究所 助教)
- 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