

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：特別推進研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18H05214

研究課題名（和文）多階層オミックスによる卵子の発生能制御分子ネットワークの解明

研究課題名（英文）Omics approaches towards the elucidation of the molecular network regulating the developmental capacity of the mammalian oocyte

研究代表者

佐々木 裕之（SASAKI, Hiroyuki）

九州大学・生体防御医学研究所・特別主幹教授

研究者番号：30183825

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 391,200,000円

研究成果の概要（和文）：マウス卵子をモデルとして、ゲノム編集と微量オミックス解析技術を駆使し、哺乳類の個体発生を司るヒストン修飾とDNAメチル化の分子ネットワークの全体像を明らかにした。その際、過去の知見を覆し、各々のヒストン修飾がDNAメチル化の効率や分布に及ぼす新たな生物学的作用を明らかにし、その作用を媒介するタンパク質やその機能ドメインを同定した。また、卵子のヒストン修飾やエピゲノム制御因子が染色体分配などの細胞機能に影響を及ぼす一方、DNAメチル化はほぼ母性インプリント遺伝子に限定した効果を持つことを示した。さらに卵子のDNAメチル化が受精を経て次世代へ伝達される可能性を予測する数理モデルを構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々が明らかにしたマウス卵子におけるヒストン修飾とDNAメチル化の分子ネットワークは、不妊・流産・先天異常の原因解明、及び生殖補助医療技術の改善に資すると考えられ、ヒト人工多能性幹細胞から誘導された卵細胞のエピゲノムデータは、この細胞の学術的・臨床的応用に向けて貴重な情報リソースである。また、我々が開発した数理モデルは、子宮内環境や種々の環境ストレスにより生じたエピゲノム異常の次世代への伝達の予測に役立つほか、その機構の解明に貢献すると期待される。

研究成果の概要（英文）：By applying genome editing and small-scale omics approaches, we have revealed the molecular network regulating histone modifications and DNA methylation in mouse oocytes, which are essential for mammalian development. We discovered that several histone modifications impact the efficiency and distribution of DNA methylation and identified the proteins and their domains that mediate the epigenetic crosstalk. Further, we found that, while DNA methylation established in oocytes regulates the expression of the maternally imprinted genes almost exclusively in embryos, histone modifications and their responsive factors have a wider effect and regulate various cellular function including chromosome segregation. Finally, we developed a machine-learning-based model that predicts the heritability of DNA methylation to the next generation based on DNA sequence. The findings provide a basis for the study of infertility, various diseases, and improvement of assisted reproductive technologies.

研究分野：分子生物学、遺伝学、発生学、エピジェネティクス

キーワード：卵子 オミックス ゲノム編集 機械学習 発生 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

卵子は有性生殖を行う全ての動物の新たな生命を担う細胞であり、この細胞が持つ発生遺伝子制御プログラムの解明は発生学の重要なテーマである。このプログラムは転写因子のカスケードとエピゲノム修飾 (DNA メチル化・ヒストン修飾等) の二つに大別できるが、後者にはさらに活性型と抑制型のプログラムがある。しかし人工多能性幹細胞の登場以来、活性型プログラムの研究は大いに進んでいるものの、抑制型プログラムについては不明な点が多い。

本研究課題の核心をなす学術的な「問い」は、哺乳類において「卵子の抑制型エピゲノム修飾プログラムは如何にして構築・維持・伝達されるのか」、また「その破綻は受精卵の発生に如何なる影響を与えるのか」の2点である。そのためマウスの遺伝子に変異を導入するゲノム編集技術、微量サンプルへの応用が著しく進んだ多階層のオミックス技術、及び進歩が目覚ましい数理的手法を駆使し、DNA メチル化を中心とする卵子の抑制型エピゲノム修飾プログラムを支える制御ネットワークを明らかにすることが必要であった。

2. 研究の目的

本研究計画では、抑制型のエピゲノム修飾プログラムである DNA メチル化及び関連するヒストン修飾 (H3K9me、H3K36me) に関わる 6 種類の鍵分子 (修飾酵素や結合因子) に着目し、代表者佐々木らの持つゲノム編集技術と多階層オミックス技術を駆使して、その制御ネットワークと生物学的作用の全体像を明らかにする。また、分担者丸山の数理学的解析により抑制型プログラムとエピゲノム変化の伝達の予測を可能にすることを目指した。なお抑制型のプログラムにはポリコム複合体によって構築・維持されるエピゲノム修飾もあるが、これは DNA メチル化とは独立に働き、その制御だけでひとつの研究分野を形成するため、今回の研究対象から除外した。

6 種類の鍵分子は機能的に密接に関連することが期待されるため、一体として研究を行うことで包括的な理解が可能となる。これにより、「DNA メチル化を中心とする卵子の抑制型エピゲノム修飾プログラムの制御分子ネットワークを解明し、鍵因子の新機能を明らかにし、プログラムの維持・伝達機構の解明を行う」ことが本研究の目的である。

本研究では以下の 4 つの具体的な研究項目・目標を定めた。(1) 卵子内の抑制型エピゲノム制御因子のネットワークを明らかにする：各鍵因子の生化学的機能、制御カスケード上の関係、物理的相互作用、標的遺伝子の同定等を行う。(2) 卵子内エピゲノム制御因子の発生プログラムへの影響を明らかにする：ゲノム編集技術を用いて各分子に変異を持つ卵子を作成し、受精後の胚発生への影響を調べる。(3) エピゲノム制御因子の新たな機能を明らかにする：ヒストン以外の標的タンパク質を同定する等、エピゲノム修飾では説明できない新機能を同定・解明する。(4) 受精を経て伝達される抑制型プログラムの特性を明らかにする：抑制型プログラムが受精を経て伝達される機構を明らかにし、子孫へ伝達されるエピゲノム変化の特徴を掴むとともに、環境ストレス等によるエピゲノム変化の伝達予測法を開発する。

3. 研究の方法

卵子の抑制型プログラムである DNA メチル化及びヒストン修飾 (H3K9me_{2/3}、H3K36me_{2/3}) に関わる 6 種類の鍵分子 (DNA メチル化酵素 Dnmt3a、DNA メチル化維持因子 Uhrf1、H3K9me₂ 修飾酵素 G9a、H3K9me₃ 修飾酵素 Setdb1、H3K36me₃ 修飾酵素 Setd2、DNA メチル化保護因子 Stella) に着目し、その制御ネットワークと生物学的作用の全体像を明らかにする。各研究項目の研究方法は以下のとおりとした。

(1) 卵子内の抑制型エピゲノム制御因子のネットワークを明らかにする

まず、ゲノム編集技術によりそれぞれの鍵分子に変異を導入した。どの鍵分子が DNA メチル化に関わるか明らかにするため、マウス卵子 200 個を用いて全ゲノム DNA メチル化状態を調べ、Dnmt3a 欠損卵子のそれと比較した。必要に応じて全ゲノムのヒストン修飾を 200 個の細胞で検出可能な ULI-NChIP 法で調べた。一方、相補的なアプローチとして、DNA メチル化酵素 Dnmt3a のヒストン修飾認識ドメインにアミノ酸置換を導入したマウスを作成した。それらは Dnmt3a の PWWP ドメイン (H3K36me₃ を認識)、ADD ドメイン (非修飾 H3K4 を認識)、Uhrf1 の RING ドメイン (ユビキチン化を触媒)、Tandem Tudor ドメイン (H3K9me_{2/3} を認識) である。これらについても同様の解析を行なった。

(2) 卵子内エピゲノム制御因子の発生プログラムへの影響を明らかにする

鍵分子に変異を有する雌マウスを野生型雄マウスと交配し、妊孕性を確認し、仔が生まれない場合は胎児の異常を特定した。すでに表現型が明らかなもの (Setdb1、Stella) 及び解析が進行中の分子 (Uhrf1) については、卵割のリアルタイム解析や各種免疫染色等により詳しい解析を行った。不等卵割や染色体分配異常 (ラギングや微小核等) について特に注意して観察した。また、表現型を説明しうる遺伝子発現変化があるか RNA-seq 法で調べた。

(3) エピゲノム制御因子の新たな機能を明らかにする

鍵分子は多機能タンパク質である可能性が高く、実際にエピゲノム異常では説明できない表現型が観察される。野生型及び変異卵子から抽出物を調整し、LC/MS/MS 法によりタンパク質の

量的及び質的（修飾）変動を捉えた。当研究室では 50 個のマウス卵子でプロテオミクス解析が可能である。

（４）受精を経て伝達される抑制型プログラムの特性を明らかにする

卵子の抑制型プログラムの維持・伝達を予測する計算手法を確立するため、胚盤胞の DNA メチル化データに機械学習を適用した（塩基多型により父母由来を区別する、又は母性ゲノムのみを持つ単為発生胚盤胞のデータを利用）。メチル化標的部位の周辺配列から計算される特徴量を設計し、特徴ベクトルを入力とするメチル化・非メチル化の分類モデルの学習と評価を行った。また、配列特異的結合因子の関与が予測されることから、新たな配列モチーフの検索を行った。

4. 研究成果

4 つの研究項目ごとに主な研究の成果、インパクトについて述べる。（本研究の成果はジャーナル名を太字とした。）

（１）卵子内の抑制型エピゲノム制御因子のネットワークを明らかにする

まず 6 種類の鍵分子（**図 1**）のうち 4 つの遺伝子の欠損マウス卵子を作成し、ヒストン修飾と DNA メチル化のクロストークについて調べた。

その結果、まず H3K9me2 修飾酵素 G9a は予想通り卵子の H3K9me2 導入に必須だった

が、体細胞における知見とは異なり、DNA メチル化への影響は僅少であった（Au Yeung et al. *Cell Rep.* 2019）。H3K9me2 は体細胞のコウクロマチン領域の DNA メチル化と遺伝子抑制に重要であることが知られており、細胞種による修飾の役割の違いが浮き彫りになった。

次に、H3K9me2 及び H3K9me3 がクロマチン相互作用ドメイン（ゲノム高次構造）に与える影響を調べるため、H3K9me2 修飾酵素 G9a と H3K9me3 修飾酵素 Setdb1 の欠損卵子について清華大の Xie らと共同研究を行った。微量 Hi-C 解析による精緻な研究の結果、H3K9me2/3 のクロマチン相互作用ドメイン形成への貢献は確認できず、むしろポリコム複合体が導入する H3K27me3 が重要であるという結果を得た（Du et al. *Mol. Cell* 2020）。ポリコム関連クロマチドメインはコヒーシオン非依存的に形成され、遠距離間で相互作用する等、再び体細胞にはないユニークな特徴が明らかになった。

一方、H3K36me3 修飾酵素 Setd2 欠損マウス卵子において、H3K36me3 の消失に伴って DNA メチル化が大幅に低下することが分かった。両者のゲノム上の分布の一致度から考えてこれは予想された結果であったが、一方で、DNA メチル化が多くの領域で残存しており、その領域には H3K36me2 が集積していることを見つけた。そこで、我々は H3K36me2 修飾酵素をドミナントネガティブ効果により阻害する H3.3 バリエーションを卵子で発現させ、H3K36me2 を特異的に欠損させる実験を行った。その結果、H3K36me2 が集積している領域の DNA メチル化が大きく低下することが分かった。さらに Setd2 欠損とバリエーション発現を組み合わせると H3K36me2/3 を共に消失させると、卵子の DNA メチル化がほぼ完全に消失した（Yano et al. *Nat. Commun.* 2022）。すなわち、卵子の DNA メチル化はほぼ完全に H3K36me2/3 に依存することを初めて明確に示すことに成功した（**図 2**）。

始原生殖細胞及び卵子で合成される母性因子 Stella は、卵子や初期胚の母性クロマチンの H3K9me2 に結合して、当該領域のメチル化 DNA を脱メチル化から保護するという説が提唱されていた（Nakamura et al. *Nature* 2012）。しかし我々は、卵子ゲノム上の H3K9me2 と DNA メチル化の分布はむしろ排他的であること、G9a 欠損により H3K9me2 を消失させても DNA メチル化は消失しないことを明らかにした（Au Yeung et al. *Cell Rep.* 2019）。さらに、より直接的に Stella の DNA メチル化への影響を調べるため Stella 欠損卵子を調べたところ、DNA 脱メチル化は全く観察されず、むしろ異所性の高メチル化が観察された。しかもこの異常なメチル化蓄積は、卵形成以前の始原生殖細胞において既に観察されていた（Toriyama et al. **投稿中**）。この結果は、

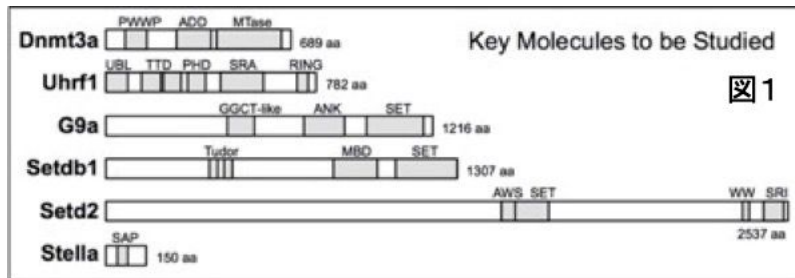


図 1

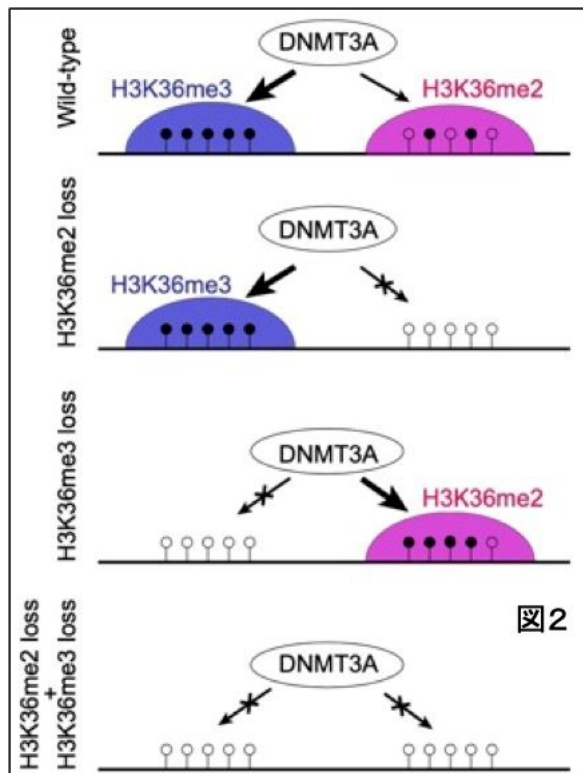


図 2

Zhuらの報告 (Li et al. Nature 2018) と一部合致していたが、彼らは始原生殖細胞における異所性メチル化を見逃しており、そのため誤った結論に至っている。以上を総合して、「Stellaは始原生殖細胞と着床前胚の双方で DNA 脱メチル化に関わる重要なリプログラミング因子である」が我々の結論である。Stellaは DNA メチル化維持因子 Uhrf1 を核外に排出することで、始原生殖細胞の DNA 複製依存的な受動的脱メチル化を促進することが強く示唆された (Toriyama et al. 投稿中)。

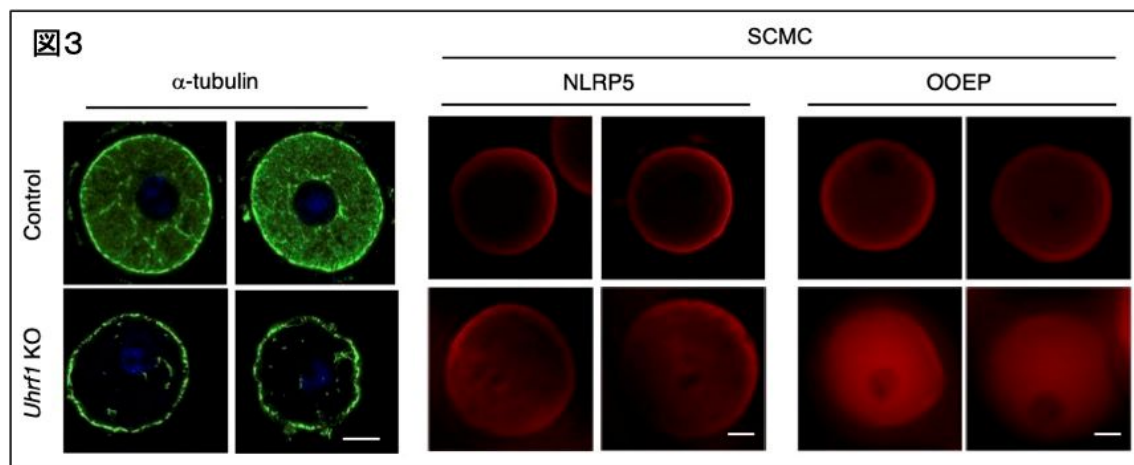
一方、ヒストン修飾酵素の欠損と相補的なアプローチとして、de novo DNA メチル化酵素 Dnmt3a のヒストン修飾認識ドメインにアミノ酸置換を導入した卵子を作成した。その結果、PWWP ドメインは、Dnmt3a を H3K36me2/3 で修飾されたゲノム領域へ繋ぎ留めるために必要で、H3K36me2/3 のない領域の異所的なメチル化を防ぐことが分かった (Kibe et al. PLoS Genet. 2021)。ヒトでは Dnmt3a PWWP ドメインの変異が Heyn-Sproul-Jackson 症候群という小人症を引き起こすことが報告されており、その症例で報告された異所性のメチル化と同じ結果であった。非修飾 H3K4 を認識する (H3K4me1/2/3 を認識しない) ADD ドメインについては、アミノ酸置換を導入すると卵子ゲノム全体の DNA メチル化の中程度の喪失が生じた。すなわち、ADD ドメインは H3K4me1/2/3 が集積したゲノム領域に Dnmt3a をリクルートしないという負の標的特異性に加えて、Dnmt3a をクロマチンに繋ぎ留めてメチル化の効率を上げることが分かった。非常に興味深いことに、卵子におけるインプリント遺伝子の中程度のメチル化喪失が、受精後の胎仔における完全メチル化喪失又は完全メチル化回復へと変換された。この結果は確率論的なエピジェネティック伝達のモデルになると期待している (Uehara et al. 投稿中)。

以上を総合すると、H3K36me2/3 DNA メチル化 (正の標的特異性)、H3K4me1/2/3 非 DNA メチル化 (負の標的特異性)、非修飾 H3K4 DNA メチル化 (密度上昇) という、卵子内の抑制型エピゲノム制御因子のネットワークが浮かび上がり、体細胞ではメジャーな「H3K9me2/3 DNA メチル化」という図式は卵子では働かないことが初めて明らかになった。一方、始原生殖細胞における Stella Uhrf1 の核外排出 DNA 脱メチル化という経路の存在が判明し、これが Tet1 を介する能動的な脱メチル化と共に、卵子の DNA メチル化パターンに大きく影響することが示された。(2) 卵子内エピゲノム制御因子の発生プログラムへの影響を明らかにする

H3K9me3 修飾酵素 Setdb1、H3K36me3 修飾酵素 Setd2、DNA 脱メチル化因子 Stella 等の鍵分子に変異を持つ卵子を野生型の精子で受精すると、着床前に致死であることが分かっている (母性効果)。今回我々は、H3K9me2 修飾酵素 G9a 欠損卵子がヘテロクロマチン再構成と受精後の染色体分配に異常を来すこと、そのため一部の胚が着床前に致死であることを報告した (Au Yeung et al. Cell Rep. 2019)。すなわち、ヒストン修飾酵素の欠損ではクロマチン構造の異常及び染色体分配の異常などを伴う重篤な発生プログラムの異常が見られる。

一方、de novo DNA メチル化酵素 Dnmt3a の PWWP ドメインのアミノ酸置換卵子は受精後の発生異常を示さなかった (ただし母体の異常あり = Heyn-Sproul-Jackson 症候群に類似の小人症) (Kibe et al. PLoS Genet. 2021)。すなわち、PWWP 変異は卵子における異所的な DNA 高メチル化を生じるが、これは受精後の初期胚で消去 (初期化) されると考えられる。一方、ADD ドメインの変異卵子に由来する胚は、着床前は正常であったが、着床後の妊娠中期以降の様々なステージで致死であった。これらの胚を調べてみると、ほぼ母性インプリント遺伝子に限定した、確率論的な DNA メチル化消失と遺伝子発現異常が認められ、ヒトの multi-locus-imprinting disorder と類似の状態が再現されていた (Uehara et al. 投稿中)。卵子における DNA メチル化欠損は主にインプリント遺伝子の発現異常を通して発生プログラムを制御することが分かった。(3) エピゲノム制御因子の新たな機能を明らかにする

DNA メチル化維持因子 Uhrf1 欠損卵子の DNA メチル化異常と受精後の着床前致死性については以前報告したが、その際、遺伝子発現異常がほとんどないこと、この因子は卵子や初期胚において核内のみならず細胞質に大量に存在することを見つけた。そのため、Uhrf1 が DNA メチル化を介さず、細胞質における別の機能により発生を制御する可能性が考えられた。そこで、Uhrf1 欠損胚と正常胚との核・細胞質の置換実験により、致死性の原因が核ではなく細胞質にあることを確認した。さらに、これらの卵子は細胞骨格の格子構造の崩壊、オルガネラの分布異常、細胞質



皮質下母性因子複合体 (SCMC) の分布異常などを呈すること (図3)、微量プロテオミクス解析によりこれらの細胞骨格構成成分が著減することを明らかにした。一方、これらの因子の mRNA は減少しなかったため、Uhrf1 はタンパク質のレベルで細胞骨格に関連する機能を制御すると考えられた (Uemura et al. *Life Sci. Alliance* 2023)。

(4) 受精を経て伝達される抑制型プログラムの特性を明らかにする

機械学習による DNA メチル化伝達の予測では、まず既存手法による予備的解析の過程で、特徴抽出問題はかなり難度が高いことが判明したため、DNA 配列のベクトル表現を学習する再帰型ニューラルネットワークモデルを独自に設計・実装した。その結果、DNA 配列がメチル化の維持・伝達を規定する情報を内包することを確認するとともに、十分に精度の高い予測モデルを得ることができた (Maruyama et al. *BMC Bioinform.* 2022)。次に、ロジスティック回帰により DNA メチル化の維持・伝達に対して正及び負に働くモチーフを抽出し、Sp ファミリー転写因子の結合配列が DNA メチル化の伝達と負に相関する (即ち受精後の消去と関連する) ことを明らかにした (Au Yeung et al. *投稿準備中*)。正に働くモチーフとしては、Zfp57 結合配列以外に強い効果の配列は見つかっていないが、DNA メチル化伝達を示す領域のサブセットに働くモチーフの存在や弱い効果のモチーフの組み合わせが重要である可能性が示され、本課題終了後も引き続き検討を行う予定である。

(5) 当初に予見していなかった新たな展開等によって得られた研究成果

まず、卵子と初期胚のヒストン修飾状態にはヒストンバリエーションの存在が大きく影響すると予想されたため、そのゲノム上の分布を解析したところ、H3.3 のパターンが卵成長期及び受精直後に大規模な再構成を受けることを発見した。特に受精卵 (1 細胞期) はユニークな H3.3 分布パターンを示し (全能性と関係すると考えられる) が、これが 2 細胞期に DNA 複製依存的な再構成を受け、H3.1/H3.2 が取り込まれることで体細胞の分布パターンへと変化することを見つけた (Ishiyuchi et al. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2021)。これは本研究課題における予想外の発見である。

また、初期胚におけるインプリント遺伝子などの片アレル発現の制御と関連して、胚性幹細胞のアレル特異的な遺伝子発現について調べたところ、DNA 多型による影響が大きいという意外な結果を得た (Ohishi et al. *Genes Cells* 2020)。これらの多型は DNA メチル化や H3K9me2/3 には影響を与えず、むしろ H3K27me3 や H3K4me2/3 と関連することも分かった。

一方、我々の微量 DNA メチル化解析技術 (Au Yeung & Sasaki *Methods in Molecular Biology* 2022 にプロトコルを報告した) に対して多くの共同研究依頼があり、本課題の経費で導入した機器を駆使することにより以下の研究成果を得た。まず、京大斎藤らが作成した人工多能性幹細胞由来のヒト卵原細胞について、インプリント消去や X 染色体再活性化等生体内で生じる変化が培養皿で再現されていることを確認した (Yamashiro et al. *Science* 2018)。これはヒト卵子の発生能を制御するネットワークの解明に向けた重要な成果である。また、慶応大塩見らと共同でゴールデンハムスターの卵子における世界で初めての DNA メチル化解析を実施し、小分子 RNA の産生に関わる PIWI3 遺伝子の欠損によりメチル化低下が起きることを報告した (Hasuwa et al. *Nat. Cell Biol.* 2021)。さらに、プリティシュコロンビア大の Lorincz らとの共同研究により、卵子内に蓄積されている母性 Dnmt3a が、受精直後に父性ゲノム上の遺伝子のメチル化と発現抑制を行うという結果を得た (Richard Albert et al. *Nat. Commun.* 2020)。すなわち、卵子内のエピゲノム制御因子が父性ゲノムをプログラムするという新たな機構が浮かび上がった。

最後に、当初から計画していた機械学習を用いる研究とは別に、我々が本課題で産出した DNA メチル化及びヒストン修飾データを活かし、ゲノム上の DNA メチル化分布を他の修飾の分布から予測する畳み込みニューラルネットワークモデルを構築した。このモデルは卵子における DNA メチル化と H3K36me3 及び H3K4me3 の密接な関係を予測したほか、ヒストン修飾に摂動を加えた場合の DNA メチル化パターンも正確に予測した (Au Yeung et al. *BMC Bioinform.* 2021)。卵子の抑制型エピゲノム修飾プログラムのさらなる解明に向け、新たなエピゲノム修飾・因子を選定する際に役立つと期待している。

最後に、上記の研究成果を発信し、我が国の若手研究者と世界の一流研究者との交流を図るため、新学術領域研究「全能性プログラム」(小倉淳郎代表) 領域研究「配偶子インテグリティ」(林克彦代表) 及び本特別推進研究の三者共催により、**国際シンポジウム Totipotency and Germ Cell Development** を九州大学医学部百年講堂で開催した (2022 年 11 月 23-25 日)。新型コロナウイルス感染症の影響で当初計画より 1 年遅れの開催であったが、22 カ国から 405 名の参加があり (現地 177 名、オンライン 228 名) 大盛況であった。本研究課題からは代表者の佐々木と分担者の丸山が講演し、若手が 4 件のポスター発表を行ったほか、本経費により海外演者 3 名と国内演者 1 名を招聘した。また、本研究課題に参画した助教 2 名 (連携研究者の鶴木元香及び石内崇士) と講師がそれぞれ准教授に昇任・転出し、大学院生及びポスドク 2 名が助教に採用されるなど若手育成に貢献したほか、代表者の佐々木はエピジェネティクス解明の成果を評価され、上原記念生命科学財団から上原賞を受賞した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Shuhei Uemura, Shoji Maenohara, Kimiko Inoue, Narumi Ogonuki, Shogo Matoba, Atsuo Ogura, Mayuko Kurumizaka, Kazuo Yamagata, Jafar Sharif, Haruhiko Koseki, Koji Ueda, Motoko Unoki, Hiroyuki Sasaki	4. 巻 6
2. 論文標題 UHRF1 is essential for proper cytoplasmic architecture and function of mouse oocyte and derived embryo.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e202301904
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.26508/lisa.202301904	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yano Seiichi, Ishiuchi Takashi, Abe Shusaku, Namekawa Satoshi H., Huang Gang, Ogawa Yoshihiro, Sasaki Hiroyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Histone H3K36me2 and H3K36me3 form a chromatin platform essential for DNMT3A-dependent DNA methylation in mouse oocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4440
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-32141-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Maruyama Osamu, Li Yinuo, Narita Hiroki, Toh Hidehiro, Au Yeung Wan Kin, Sasaki Hiroyuki	4. 巻 23
2. 論文標題 CMIC: predicting DNA methylation inheritance of CpG islands with embedding vectors of variable-length k-mers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 371
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12859-022-04916-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 UNOKI Motoko, SASAKI Hiroyuki	4. 巻 98
2. 論文標題 The UHRF protein family in epigenetics, development, and carcinogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Series B	6. 最初と最後の頁 401 ~ 415
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2183/pjab.98.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Au Yeung Wan Kin, Sasaki Hiroyuki	4. 巻 2509
2. 論文標題 Low Input Genome-Wide DNA Methylation Analysis with Minimal Library Amplification	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 233 ~ 250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2380-0_14	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kibe Kanako, Shirane Kenjiro, Ohishi Hiroaki, Uemura Shuhei, Toh Hidehiro, Sasaki Hiroyuki	4. 巻 17
2. 論文標題 The DNMT3A PWWP domain is essential for the normal DNA methylation landscape in mouse somatic cells and oocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1009570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1009570	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Au Yeung Wan Kin, Maruyama Osamu, Sasaki Hiroyuki	4. 巻 22
2. 論文標題 A convolutional neural network-based regression model to infer the epigenetic crosstalk responsible for CG methylation patterns	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 341
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12859-021-04272-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hasuwa Hidetoshi, Iwasaki Yuka W., Au Yeung Wan Kin, Ishino Kyoko, Masuda Harumi, Sasaki Hiroyuki, Siomi Haruhiko	4. 巻 23
2. 論文標題 Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Cell Biology	6. 最初と最後の頁 1002 ~ 1012
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41556-021-00745-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Richard Albert, J., Au Yeung, W.K., Toriyama, K., Kobayashi, H., Hirasawa, R., Brind'Amour, J., Bogutz, A., Sasaki, H. & Lorincz, M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Maternal DNMT3A-dependent de novo methylation of the paternal genome inhibits gene expression in the early embryo.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5417
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19279-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishichi, T., Abe, S., Inoue, K., Au Yeung, W.K., Miki, Y., Ogura, A. & Sasaki, H.	4. 巻 28
2. 論文標題 Reprogramming of the histone H3.3 landscape in the early mouse embryo.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 38-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41594-020-00521-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Au Yeung, W.K., Brind'Amour, J., Hatano, Y., Yamagata, K., Feil, R., Lorincz, M.C., Tachibana, M., Shinkai, Y. & Sasaki, H.	4. 巻 27
2. 論文標題 Histone H3K9 methyltransferase G9a in oocytes is essential for preimplantation development but dispensable for CG methylation protection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 282-293
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.03.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohishi, H., Au Yeung, W.K., Unoki, M., Ichianagi, K., Fukuda, K., Maenohara, S., Shirane, K., Chiba, H., Sado, T. & Sasaki, H.	4. 巻 25
2. 論文標題 Characterization of genetic-origin-dependent monoallelic expression in mouse embryonic stem cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 54-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12736	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Du, Z., Zheng, H., Kawamura, Y.K., Zhang, K., Gassler, J., Powell, S., Xu, Q., Lin, Z., Xu, K., Zhou, Q., Ozonov, E.A., Veron, N., Huang, B., Li, L., Yu, G., Liu, L., Au Yeung, W.K., Wang, P., Chang, L., Wang, Q., He, A., Sun, Y., Na, J., Sun, Q., Sasaki, H., Tachibana, K., Peters, A.H.F.M. & Xie, W.	4. 巻 77
2. 論文標題 Polycomb group proteins regulate chromatin architecture in mouse oocytes and early embryos.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 825-839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2019.11.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 1.石内崇士, 榎原祐樹, 佐々木裕之.	4. 巻 72
2. 論文標題 Low-input ChIP-seqの現状.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	6. 最初と最後の頁 283-286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashiro, C., Sasaki, K., Yabuta, Y., Kojima, Y., Nakamura, T., Okamoto, I., Yokobayashi, S., Murase, Y., Ishikura, I., Shirane, K., Sasaki, H., Yamamoto, T. & Saitou, M.	4. 巻 362
2. 論文標題 Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells in vitro.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 356-360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aat1674	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Au Yeung, W.K., Brind'Amour, J., Hatano, Y., Yamagata, K., Feil, R., Lorincz, M.C., Tachibana, M., Shinkai, Y. & Sasaki, H.	4. 巻 27
2. 論文標題 Histone H3K9 methyltransferase G9a in oocytes is essential for preimplantation development but dispensable for CG methylation protection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 282-293
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.03.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tucci, V., Isles, A.R., Kelsey, G., Ferguson-Smith, A.C., Bartolomei, M.S, Benvenisty, N., Bourc'his, D., Charalambous, M., Dulac, C., Feil, R., Glaser, J., Huelsmann, L., John, R.M., McNamara, G.I., Moorwood, K., Muscatelli, F., Sasaki, H., Strassmann, B.I., Vincenz, C., Wilkins, J.	4. 巻 176
2. 論文標題 Genomic imprinting and physiological processes in mammals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 952-965
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2019.01.043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 阿部周策, 佐々木裕之	4. 巻 267
2. 論文標題 エピジェネティクスと蛋白質合成の制御.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 893-897
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計30件 (うち招待講演 24件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 マウス卵子の発生能とエピゲノム修飾の相互作用ネットワーク
3. 学会等名 第15回日本エピジェネティクス研究会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 卵子のエピジェネティクスと発生能
3. 学会等名 ART FORUM ' 22 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 運命と偶然のはざまを科学する：私のエピジェネティクス研究
3. 学会等名 日本遺伝学会第94回大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 Multiple histone-interaction regulates DNMT3A mediating DNA methylation and imprinting in mouse oocytes
3. 学会等名 The International Symposium “Totipotency and Germ Cell Development”（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Osamu Maruyama
2. 発表標題 Recurrent neural network approach for predicting DNA methylation inheritance of CpG islands using embedding vectors of variable length k-mers
3. 学会等名 The International Symposium “Totipotency and Germ Cell Development”（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 早期ライフステージにおける環境ストレスとエピジェネティクス
3. 学会等名 第30回日本ステロイドホルモン学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 Regulation of DNA methylation and imprinting in mouse oocytes
3. 学会等名 The 36th International mammalian Genome Conference (IMGC2023) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 エピゲノム研究の現状と医学生物学への応用
3. 学会等名 第15回ケミカルバイオロジー学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 ヒトエピゲノム研究の現状と医学応用
3. 学会等名 第71回日本体質医学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wan Kin Au Yeung, Osamu Maruyama & Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 A machine learning model to infer the epigenetic crosstalk responsible for CG methylation patterns
3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 Molecular network regulating the epigenetic program of mammalian oocytes
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Seiichi Yano, Takashi Ishiuchi, Shusaku Abe, Satoshi Namekawa, Gang Huang & Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 Histone H3K36me2 and H3K36me3 form a chromatin platform essential for DNMT3A-dependent DNA methylation in mouse oocytes
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 Establishment of the proper DNA methylation landscape requires the DNMT3A domains recognizing histone modifications in mouse oocytes
3. 学会等名 The 30th Hot Spring Harbor International Symposium, Chromatin Potential in Development & Differentiation, The 6th Symposium of the Inter-University Research Network for Trans-Omics Medicine (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 哺乳類の生殖細胞におけるエピジェネティクス制御の仕組みを探る
3. 学会等名 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成田浩規, Au Yeung Wan Kin, 佐々木裕之, 丸山修
2. 発表標題 埋め込みベクトルによるCpGアイランドのメチル化状態予測
3. 学会等名 情報処理学会第69回BIO研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 予測と偶然の科学：エピジェネティクス
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー：生殖細胞-減数分裂シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryo Shimizu, Wan Kin Au Yeung, Hidehiro Toh, Hiroyuki Sasaki, Osamu Maruyama
2. 発表標題 Predicting Discriminative Motifs for DNA Methylation in Mammalian Development.
3. 学会等名 2020年日本バイオインフォマティクス学会年会・第9回生命医薬情報学連合大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 ヒトエピゲノム研究の現状と医学応用.
3. 学会等名 第31回日本緑内障学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 Genomic imprinting as a model to study epigenetic inheritance and reprogramming.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 DNA methylation in development and disease.
3. 学会等名 Genome Concept Centennial Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sasaki, H.
2. 発表標題 Molecular network regulating the epigenetic programs of mammalian oocytes.
3. 学会等名 第13回日本エピジェネティクス研究会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木裕之.
2. 発表標題 マウス卵子のエピゲノム制御ネットワーク.
3. 学会等名 2019遺伝研研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木裕之.
2. 発表標題 DNAメチル化と疾患.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasaki
2. 発表標題 Epigenetic program of mammalian oocytes.
3. 学会等名 理化学研究所エピゲノム操作プロジェクトセミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 エピジェネティクスと細胞記憶と疾患.
3. 学会等名 大阪大学微生物病研究所セミナー学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sasaki, H.
2. 発表標題 Role of UHRF1 in de novo DNA methylation in oocytes and maintenance methylation in preimplantation embryos.
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia Conference: Chromatine, Epigenetics & Transcription 2018 (Suzhou) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 エピジェネティクスと細胞記憶と疾患
3. 学会等名 平成30年度日本生化学会九州支部例会（福岡）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木裕之
2. 発表標題 エピジェネティクスと細胞記憶と疾患
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会（福岡）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sasaki, H.
2. 発表標題 Distinct roles of epigenetic regulators in mouse oocytes and somatic cells.
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Meeting: Epigenetics & Chromatin (New York) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Au Yeung, W.K., Brind'Amour, J., Hatano, Y., Yamagata, K., Feil, R., Lorincz, M.C., Tachibana, M., Shinkai, Y., Sasaki, H.
2. 発表標題 Histone H3K9 methyltransferase G9a in oocyte is essential for preimplantation development but dispensable for CG methylation protection.
3. 学会等名 International Human Epigenome Consortium Annual Meeting 2018 (Hong Kong) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 鶴木元香, 佐々木裕之	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 188
3. 書名 もっとよくわかる! エピジェネティクス. 実験医学別冊	

〔産業財産権〕

〔その他〕

九州大学生体防御医学研究所エピゲノム制御学分野 https://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/labo/epigenome/ 九州大学芸術工学院丸山研究室 http://www.design.kyushu-u.ac.jp/~maruyama/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	丸山 修 (MARUYAMA Osamu) (20282519)	九州大学・芸術工学研究院・准教授 (17102)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	鶴木 元香 (UNOKI Motoko) (30525374)	東京大学・大学院医学系研究科・准教授 (12601)	
連携研究者	石内 崇士 (ISHIUCHI Takashi) (80612100)	山梨大学・生命環境学部・准教授 (13501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計1件

国際研究集会 The International Symposium “Totipotency and Germ Cell Development”	開催年 2022年～2022年
---	--------------------

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
カナダ	University of British Columbia			
中国	清華大学	北京大学	中国科学院	
スイス	Friedrich Miescher Institute	University of Basel		
オーストリア	Vienna Biocenter			
ドイツ	Max Planck Institute of Biochemistry			
フランス	Institute of Molecular Genetics	CNRS	University of Montpellier	
米国	University of California Davis	UT Health San Antonio		