

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 8年 4月 13日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 酪農学園大学
職 名 助教
研究代表者 小林 良祐

下記のとおり令和7年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 25014)

1. 共同研究課題名	誘導性ノックダウンモデルを駆使した胚着床におけるエンハンサー制御の解明			
2. 共同研究目的	本研究の目的は、哺乳動物の胚着床に必須のエンハンサー制御機構の解明を目的とする。この目的を達成するため、群馬大学生体調節研究所の畑田教授、堀居准教授との共同研究により、エンハンサー制御に重要なヒストンメチル化酵素 KMT2C/D の誘導性ノックダウンマウスを開発する。このマウスを用いて、時期特異的なエンハンサー制御が胚着床に必須であることを証明し、さらに着床成立に必須なエンハンサーを同定する。			
3. 共同研究期間	令和7年4月1日 ~ 令和8年3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 小林 良祐	酪農学園大学 獣医学群	職名:助教 学位:博士(農学) 取得年月日:2017.3.27	研究の総括	
(分担研究者) 畑田 出穂 堀居 拓郎	ゲノム科学リソース分野 ゲノム科学リソース分野	教授 准教授	ゲノム編集のデザイン マウスの作製	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース分野	氏 名	畑田 出穂

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

6. 共同研究計画

マウス Kmt2c および Kmt2d 遺伝子に関する誘導性ノックダウンマウスモデルを作出するために、第二世代オーキシン誘導性デグロン(AID2)システムを採用する。AID2 システムでは、植物ホルモン・オーキシン誘導体の投与により標的タンパクの分解を自在に誘導することができる(右下の図を参照)。

子宮特異的に Kmt2c および Kmt2d をノックダウンできるマウスを樹立するために、生体調節研究所附属生体情報ゲノムリソースセンターで以下のマウス系統を作製する。

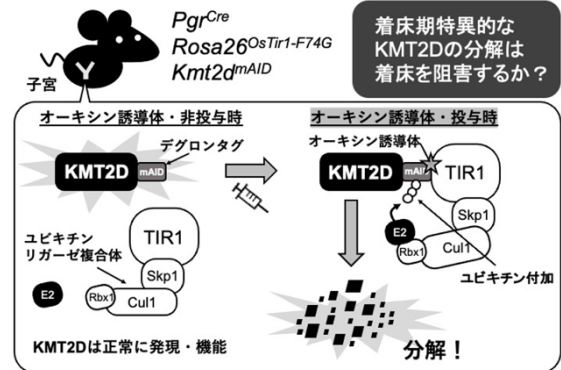
・**Rosa26^{OsTir1-F74G}**(BDF1 系統、Rosa26 領域に OsTir1-F74G 配列をノックイン)

・**Kmt2c^{mAID-HA}**(BDF1 系統、Kmt2c の C 末端に mAID-HA 配列をノックイン)

・**Kmt2d^{mAID-Ty1}**(BDF1 系統、Kmt2d の C 末端に mAID-Ty1 配列をノックイン)

作製された上記マウスは酪農学園大学へと輸送し、代表者(小林)が所持している Pgr^{Cre} マウスと交配させることで、目的とする誘導性ノックダウンモデルを樹立する。

モデルマウス樹立後は、着床期にオーキシン誘導体を投与することによって KMT2 をノックダウンし、胚着床の成立に、時期特異的な KMT2 機能が必須であることを証明する。また子宮の細胞を回収し、ATAC-seq や CUT&Tag を実施することで、着床期子宮におけるエンハンサー活性を解析し、着床に必須であり、かつ KMT2 による制御を受けるエンハンサー領域を明らかにすることを計画した。



7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

目的とするマウス作製に向けて、ドナーとなるノックインベクターを構築することができた。

Kmt2c^{mAID-HA} および Kmt2d^{mAID-Ty1} はエレクトロポレーション法によるノックインを計画しており、そのためには1本鎖 DNA ドナーを合成する必要があったが、共同研究期間内に1本鎖 DNA ドナーを研究室で調整する技術を確認することができた。今後は上記ドナーを使って実際のマウス作製を進めていく計画である。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係: kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

- 1) Understanding epigenetic regulation in the endometrium – lessons from mouse models with implantation defects. **Kobayashi, R.** & **Hatada, I.** *Epigenomics* 17(8): 541-554. 2025. doi: 10.1080/17501911.2025.2491298.
- 2) Induction of MASH-like pathogenesis in the Nwd1^{-/-} mouse liver. Yamada S, Ogawa H, Funato M, Kato M, Nakadate K, Mizukoshi T, Kawakami K, **Kobayashi R**, **Horii T**, **Hatada I**, Sakakibara SI. *Commun Biol.* 8(1):348. doi: 10.1038/s42003-025-07717-5
- 3) Ritscher-Schinzel syndrome can be characterized as an endosomal recyclinopathy. Kato K, Nishio Y, McMillan KJ, Al-Maraghi A, Kroes HY, Abdel-Hamid MS, Jones E, Shaw S, Yoshida A, Otsuji S, Murofushi Y, Aamer W, Bhat AA, AlRayahi J, Al-Shabeeb Akil AS, Aliyev E, van Binsbergen E, Janssen EJ, Mehrin KM, Oishi H, **Kobayashi R**, **Horii T**, **Hatada I**, Saito A, Hattori M, Kawano Y, Lewis PA, Heesom KJ, Takarada T, Sawamoto K,

Matsushita M, Ogi T, Butkovic R, Danson C, Wilkinson KA, Fakhro KA, Zaki MS, Saitoh S, Cullen PJ. *Sci Transl Med.* 17(805):eadt2426. 2024. doi: 10.1016/j.omtm. 2025. doi: 10.1126/scitranslmed.adt2426.

- 4) FTO promotes weight gain via altering Kif1a splicing and axonal vesicle trafficking in AgRP neurons. Kohno D, Kawabata-Iwakawa R, Ichinose S, Suyama S, Ohashi K, Ariyani W, Sadakata T, Yokota-Hashimoto H, **Kobayashi R, Horii T**, Susanti VY, Konno A, Tsuneoka H, Yoshikawa C, Matsui S, Harada A, Yada T, **Hatada I**, Hirai H, Nishiyama M, Sasaki T, Kitamura T. *EMBO J.* 44(18):4919-4961. 2025. doi: 10.1038/s44318-025-00503-3.
- 5) Pancreatic α -cell sodium-glucose cotransporter 1 (SGLT1) does not appear to contribute to hyperglucagonemia and glucose intolerance in diabetic mice. Ikeuchi Y, Kikuchi O, Kobayashi M, Tabei Y, Hashimoto H, **Kobayashi R, Horii T, Hatada I**, Miyatsuka T, Kitamura T. *Endocr J.* 2025 (Epub ahead of print.) doi: 10.1507/endocrj.EJ25-0403.
- 6) Germline epigenome editing identifies H3K9me3 as a mediator of intergenerational DNA methylation recovery in mice. **Horii T**, Morita S, Hino S, Hino Y, Fukushima HS, **Kobayashi R**, Kimura M, Nakao M, Mizukami Y, Inoue A, **Hatada I**. *Nat Commun.* 16(1):11200. 2025. doi: 10.1038/s41467-025-67488-9

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)

マウス胚着床を可能にする時期特異的エンハンサー制御の探索

小林 良祐, Elena Soloviev, 高橋 直紀, 渡邊 敬文, 豊田 敦, 浜田 道昭

第 168 回日本獣医学会学術集会 2025 年 9 月 3 日

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

・畑田教授、堀居准教授とは週に一度のオンラインミーティングを継続しており、その中でマウス作成に関する意見交換も行なっている。