

平成29年度厚生労働行政推進調査事業費  
(化学物質リスク研究事業、H27-化学-指定-001)

化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究  
— 新型反復暴露実験と単回暴露実験の網羅的定量的遺伝子発現情報の対比による毒性予測の精緻化と実用版毒性予測評価システムの構築 —

## 分担研究報告書

分担研究課題：「化学物質の反復暴露による基線反応成立のエピジェネティクス  
機構解析」

研究分担者 北嶋 聡 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 第二室 室長  
研究協力者 小野竜一 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 第五室 室長

### 研究要旨

本研究は、先行実施されたPercellome\*トキシコゲノミクス研究を基盤に、分子メカニズムに依拠した網羅的毒性評価手法を構築し、毒性予測と評価の一層の迅速化、高精度化を進めることを目的とする。反復投与時の過渡反応を修飾する基線反応の成立には、当該遺伝子のヒストン修飾やDNAメチル化等の遺伝子発現修飾機構（所謂Epigenetics）が関わる可能性が指摘される事から、本分担研究では次世代シーケンサーを利用し、反復経口投与した際の肝サンプルについてヒストン修飾やDNAメチル化状態を網羅的に検討することを目的とする。

平成27年度は、まず次世代シーケンサーを利用するDNAメチル化解析手法の性能評価を陽性対照サンプルを用いて行った。陽性対照サンプルとして、雄性C57BL/6Jと雌性JF1とのF1マウス（4週齢）の肝サンプルを実験に用いた。C57BL/6JとJF1系統間には系統間に約1千万の一塩基多型（SNPs）が存在する。このサンプルを用いる事で、親由来のメチル化の違いにより発現制御される事が既知のインプリンティング遺伝子のDNAメチル化について、親の由来に分けて決定でき、本解析法の性能評価が可能となる。加えて、DNAのメチル化の測定法としてPost-bisulfite adaptor-tagging (PBAT)法が知られているが、この手法と最近になって市販された、Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kitを用いる手法（Accel-NGS法）との比較検討もおこなった。検討の結果、PBAT法よりも、Accel-NGS法の方が、網羅的にDNAメチル化状態を把握できる事が明らかとなった。またC57BL/6Jマウス及びJF1マウスの遺伝子多型を用いて、既知の父性発現インプリンティング遺伝子であるPeg10及びMestのDMR (Differentially Methylated Region)にマップされるリードの親由来を解析したところ、全てのメチル化されたシーケンスリードはC57BL/6Jマウス由来であり、他方、全ての非メチル化されたシーケンスリードはJF1マウス由来であることが確認できたことから、ゲノムDNAのbisulfite処理は完全に行われており、Accel-NGS法を利用する次世代

シーケンサーを用いた本解析法により、DNAメチル化状態を網羅的に検討できることが確認できた。引き続き本解析手法を用いて、先行研究において取得済みの、溶媒（コーンオイル）を単回投与した際、及び四塩化炭素を14日間反復投与した際の、12週齢の雄性C57BL/6Jマウスの肝サンプルについて、DNAメチル化状態を網羅的に解析した結果、現時点では、DNAメチル化状態が顕著に変化している部位は見いだされていないが、引き続き微細にDNAメチル化状態が変化する領域の見出す検討を継続している。

平成28年度は、クロフィブレートまたはバルプロ酸ナトリウム塩を14日間反復投与した際の肝サンプルについて、本解析手法を適用しDNAメチル化状態を網羅に解析を行い、DNAメチル化状態が変化する領域を複数検出した。この微細にDNAメチル化状態が変化する領域を見出す手法として、BismarkおよびBSMAPを検討した。

平成29年度は、ヒストンのメチル化・アセチル化状態に影響している可能性も考えられることから、この網羅的解析をおこなった。具体的には、クロマチン免疫沈降（ChIP）アッセイと次世代シーケンサを組み合わせた、クロマチン免疫沈降シーケンス（ChIP-Seq）法を利用して、四塩化炭素を14日間反復投与した際のマウス肝サンプルにおけるヒストン修飾の解析を進め、詳細解析中である。ChIPアッセイの際の抗体は、以下の4種、すなわち抗H3K4me3、抗H3K27Ac、抗H3K27me3、及び抗H3K9me3抗体を用いた。

(\*) mRNA発現値を細胞1個当たりのコピー数として絶対定量する方法。

## A. 研究目的

本研究は、化学物質が生体に及ぼす毒性影響の評価手法を、生体反応の分子メカニズムに基いて迅速化、高精度化、省動物化し、インフォマティクス技術と統合して実用化する事を目的とする。即ち、先行研究にて構築済みの延べ6.5億遺伝子情報からなる高精度トキシコゲノムデータベースと単回暴露時の毒性ネットワーク解析技術を基盤に、これらを維持・拡充しつつ、反復暴露のネットワーク解析、及び、その予測評価技術を開発する。ここにインフォマティクス専門家によるシステムトキシコロジーの概念を導入し、反復暴露にも対応する網羅的毒性予測評価システムの構築を進める。

反復暴露影響の分子機序解析による、既存の単回暴露実験データベースからの反復毒性予測の性能評価においては、先行研究において、肝及び肺における四塩化炭素の新型反復暴露実験により、単回暴露時に発現変動した遺伝子のほぼ全てについて、基線反応成分（暴露回数を重ねるに連れて発現値のベースライン（基線）が徐々に変動する反応成分）は、過渡反応成分（単回暴露時の2, 4, 8, 24時間のうちに発現が変動する速い変化の成分）が増加する場合は増加、減弱する場合は減少することを見いだした。増加する事例があることから、反復投与による代謝誘導による化学物質の分解促進では説明できない事象であると考えられた。むしろ、この過渡反応と基線反応の連関性に関する知見は、生物学的・毒性学的に新規性が高くエピジェネティクスに関わる分子機序の関与が示唆されることから、これを明らかにすることは、反復毒性の分子毒

性学的理解の促進、及び、単回暴露実験データベースからの反復毒性予測法を開発するにあたり重要と考えられる。

本分担研究では、反復投与時の過渡反応を修飾する基線反応の成立には、当該遺伝子のヒストン修飾やDNAメチル化等の遺伝子発現修飾機構（所謂、Epigenetics）が関わる可能性が指摘されることから、この可能性を検討する為、次世代シーケンサーを利用し、反復経口投与した際の肝サンプルについてヒストン修飾やDNAメチル化状態を網羅的に検討することを目的とする。平成27年度は、次世代シーケンサーを利用するDNAメチル化解析手法の性能評価と、先行研究において取得済みの、四塩化炭素を14日間反復投与した際の肝サンプルのDNAメチル化状態につき網羅的に検討し、平成28年度は、クロフィブレートまたはバルプロ酸ナトリウム塩を14日間反復投与した際の肝サンプルについて、DNAメチル化状態につき網羅的に検討した。

一方、平成29年度は、クロマチン免疫沈降シーケンス（ChIP-Seq）法を利用して、四塩化炭素を14日間反復投与した際の肝サンプルにおけるヒストン修飾の解析を進めた。

## B. 研究方法

### B-1: サンプル

12週齢の雄性 C57BL/6J マウス（日本チャールスリバー）あるいは C57BL6/NCrSlc（日本エスエルシー）について、先行研究において取得済みの、溶媒（コーンオイル [C8267、シグマ アルドリッチ社] または、0.5%メチルセルロース (MC) [133-17815、和光純薬工業]）を単回投与した際、あるいは四塩化炭素、クロフィブレートまたはバル

プロ酸ナトリウム塩を 14 日間反復投与した際の肝サンプルを実験に用いた。また本解析系の陽性対照サンプルとして、雄性 C57BL/6J と雌性 JF1 との F1 マウス (4 週齢) の肝サンプルを実験に用いた。

#### B-2: bisulfite 処理

肝サンプルを、ProK (10mg/ml) 55 °C 0/N 処理後、フェノール・クロロホルム抽出、エタノール沈殿、及び 70 % エタノール洗浄により、DNA を抽出、精製した。抽出した DNA は Pico Green dsDNA 定量試薬 (Thermo) を用いて DNA 濃度を決定し、DNA 500 ng を用いて bisulfite 処理を EZ DNA Methylation-Gold kit (Zymo Research 社) により行った。

#### B-3: 次世代シーケンサーを用いた whole genome bisulfite sequencing

Bisulfite 処理後の DNA 500 ng を用いて、Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit (Swift 社) を用いて、Illumina 社の次世代シーケンサー NextSeq500 用の whole genome bisulfite sequencing に対応したライブラリーを作成した。ライブラリーは、0.2 N NaOH による denature を行った後に、NextSeq500 v1 試薬に付属の HT1 溶液を用いて 1.8 pM に希釈し、コントロールとして phiX ライブラリーを 20 % 加えてシーケンスを行った。シーケンス反応は、dual index (8bp x 2), 151 cycle single read の設定とした。シーケンス終了後は、bcl2fastq ソフトウェアにより fastq ファイルを生成し、fastq groomer ソフトウェアによる grooming を行った後に、マッピングソフト bowtie2 による bisulfite 処理済みのマウスゲノム (MM10) に対してマッピングを行った。マッピング後は、シー

ケンス可視化ソフト IGV の bisulfite mode を用いて DNA メチル化を解析した。

#### B-4: 次世代シーケンサーを用いた ChIP-Seq

四塩化炭素を 14 日間反復投与した翌日に溶媒 (コーンオイル) 投与 2 時間後のマウス肝および、溶媒 (コーンオイル) を単回投与 2 時間後のマウス肝のヒストンのメチル化およびアセチル化を比較検証し、反復投与によるクロマチン修飾の変化を明らかにする。

本 ChIP-Seq 解析は、タカラバイオ株式会社・バイオメディカルセンター・高速シーケンス解析受託受付担当経由で、Active Motif 社 (米国) に委託した。

各マウス肝 (30  $\mu$ g クロマチン調整液) (各 n=1) (必要サンプル重量を超えるように、投与群、溶媒群ともに各 3 例をそれぞれ 1 つにまとめた。必要サンプル量: 200~500 mg の凍結組織重量のところ、投与群: 計 260 mg [160, 10 及び 100 mg]、溶媒群: 計 320 mg [160, 180 及び 80 mg]) を材料として、下記 4 種の抗体、すなわち 1) 4  $\mu$ l (30  $\mu$ g) の抗ヒストン H3K4me3 抗体 (Active Motif, cat # 39159) (H3K4me3: 転写活性化に働くヒストン H3 のリジン 4 トリメチル化)、2) 4  $\mu$ l (30  $\mu$ g) の H3K27Ac3 抗体 (Active Motif, cat # 39133) (H3K27Ac3: 転写活性化に働くヒストン H3 リジン 27 のアセチル化)、3) 4  $\mu$ l (30  $\mu$ g) の H3K27me3 抗体 (Active Motif, cat # 39155) (H3K27me3: 転写抑制に働くヒストン H3 リジン 27 のトリメチル化)、4) 5  $\mu$ l (30  $\mu$ g) の H3K9me3 抗体 (Active Motif, cat # 39161) (H3K9me3: 転写抑制に働くヒストン H3 リジン 9 のトリメチル化)、および Input (抗体無しコン

トロール) を用いてクロマチン免疫沈降 (ChIP) を行った。その際、サンプル間の補正を行うために、Drosophila のクロマチンが spike in として添加されている。ChIP 後の DNA は、それぞれの抗体に対する既知の陽性コントロールおよび陰性コントロールを qPCR により定量し、そのクロマチン免疫沈降の有効性の定量を行なう。

クロマチン免疫沈降の有効性の確認ができた ChIP DNA より次世代シーケンサ解析用のライブラリーを作成し、75 bp のシングルリードで網羅的シーケンス解析を行った。シーケンス結果は、マウス標準ゲノム (mm10) に対してマッピング後に in silico で 200 bp まで各リードを延長し、SICER アルゴリズムを用いてピークコール(ピーク検出)を行なう。SICER アルゴリズムは default のパラメータ ( $p=1e-7$ (narrow peak),  $p=1e-1$ (broad peak))を用いる。各サンプルは、Drosophila DNA 断片のリード数により補正を行なう。

#### (倫理面への配慮)

動物実験の計画及び実施に際しては、科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、下記、所属の研究機関が定める動物実験に関する規定、指針を遵守した。「国立医薬品食品衛生研究所・動物実験の適正な実施に関する規程 (平成 27 年 4 月版)」。

#### C. 研究結果

平成 27 年度は、まず本解析手法の性能評価を行った。その結果、Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit を利用する次世代シーケンサーを用いた本解析法により、DNA メチル化状態を網羅的に検討できることが確

認できた。具体的には、陽性対照サンプルとして、雄性 C57BL/6J と雌性 JF1 との F1 マウス (4 週齢) の肝サンプルを実験に用いた。C57BL/6J と JF1 系統間には系統間に約 1 千万の一塩基多型 (SNPs) が存在する。このサンプルを用いる事で、親由来のメチル化の違いにより発現制御される事が既知のインプリンティング遺伝子の DNA メチル化について、親の由来に分けて決定でき、本解析法の性能評価が可能となる。加えて、DNA のメチル化の測定法として Post-bisulfite adaptor-tagging (PBAT) 法が知られているが、この手法と最近になって市販された、Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit を用いる手法 (Accel-NGS 法) との比較検討もおこなった。検討の結果、PBAT 法よりも、Accel-NGS 法の方が、網羅的に DNA メチル化状態を把握できる事が明らかとなった。また C57BL/6J マウス及び JF1 マウスの遺伝子多型を用いて、既知の父性発現インプリンティング遺伝子である Peg10 及び Mest の DMR (Differentially Methylated Region) にマップされるリードの親由来を解析したところ、全てのメチル化されたシーケンスリードは C57BL/6J マウス由来であり、他方、全ての非メチル化されたシーケンスリードは JF1 マウス由来であることが確認できたことから、ゲノム DNA の bisulfite 処理は完全に行われており、Accel-NGS 法を利用する次世代シーケンサーを用いた本解析法により、DNA メチル化状態を網羅的に検討できることが確認できた。加えて、得られたシーケンスのマッピング方法が適切か否かについての検討を行った。quality による trimming のある場合とない場合でマッピング率の検討を行なった

ところ、Q20 以上の塩基が 90% 以上で trimming を行なった結果、51505499 リードがマップされ、trimming をしない場合は 77454276 リードがマップされた。マッピングの効率を上げるためにシングルリードで 150bp をシーケンスしているの、多少 quality の低い塩基があってもマッピング可能であると考えられる。また、陽性対照部位であるインプリンティング遺伝子、Mest 遺伝子の DMR 部位を観測したところ、通常のインプリント型メチル化をしており、bisulfite 処理などに問題はないと考える。

続いて、本解析手法を用いて、先行研究において取得済みの、溶媒(コーンオイル)を単回投与([0+1])した際、及び四塩化炭素を 14 日間反復投与([14+1])した際の、12 週齢の雄性 C57BL/6J マウスの肝サンプルについて(投与 2 時間後のもの、それぞれ n=3)、DNA メチル化状態を網羅的に解析した。その結果、現時点では、DNA メチル化状態が顕著に変化している部位は見いだされていないが、引き続き微細に DNA メチル化状態が変化する領域の見出す検討を継続している。

平成 28 年度は、引き続き、基線反応の変化が著しかった四塩化炭素以外の物質、具体的には 70 mg/kg のクロフィブレート及びバルプロ酸ナトリウム塩を 14 日間反復投与([14+1])した際の肝サンプルについても同様に、溶媒(0.1%DMSO 添加 0.5%メチルセルロース)を単回投与([0+1])した際のもの(投与 2 時間後のもの、それぞれ n=3)、DNA メチル化状態を網羅的に比較解析した。現在までに、これら全てのサンプルのシーケンスを終了しており、Q30 値は全てのサンプルで 70%を超える出力を得た。解析の結果、基線反応の変動が認めら

れる遺伝子上流に位置すると考えられる Rictor、E2f1 および Xbp1 遺伝子について、プロモーター部位の DNA メチル化状態について検討したところ、大きな変化は認められなかった。その他、現時点では、いずれに於いても顕著に変化している領域は見いだされていないが、微細に DNA メチル化状態が変化する領域を複数検出している。なおこの微細に DNA メチル化状態が変化する領域を検出する手法として、Bismark および BSMAP を使用している。なお、Bisulfite 処理後のゲノム配列のマッピング計算は非常に複雑であり、1 サンプルあたり 1 週間ほどの時間が掛かり、解析上のボトルネックとなっているため、これについても解析パイプラインの最適化等、今後、改善策を検討する。

平成 29 年度は、四塩化炭素を 14 日間反復投与([14+1])した際、及び溶媒(コーンオイル)を単回投与した際の 12 週齢の雄性 C57BL/6J マウスの肝サンプルについて(投与 2 時間後のもの、それぞれ n=3、これを必要サンプル重量となるように、それぞれ 1 つにまとめた)、まずクロマチン免疫沈降を行なった結果、H3K4me3 抗体に関しては 122 倍、H3K27Ac 抗体に関しては 202 倍、H3K27me3 抗体に関しては 49 倍、H3K9me3 抗体に関しては 15 倍の濃縮が確認されたので、ChIP は正常に行われたと判断された。これらの ChIP 済み DNA よりライブラリーを作成し、次世代シーケンスによる 75 bp のシングルリードの網羅的シーケンス解析を行ない、現在データについて解析中である。

各抗体について、溶媒対照群と反復投与群において認められた各ピーク数はそれぞれ(以下、溶媒対照群、反復投与群)、

抗 H3K4me3 抗体 (16,500、15,996)、  
抗 H3K27Ac 抗体 (20,379、20,826)、  
抗 H3K27me3 抗体 (20,927、23,816)、  
抗 H3K9me3 抗体 (29,756、31,046)、

となっている。この内特に H3K27me3 は、DNA メチル化非依存的に遺伝子発現を抑制することが知られ、反復投与により 13.8%も peak 数が上昇していることから、反復投与による遺伝子発現の低下に寄与していることが示唆された(それぞれ、3.1%減少、2.2%増加、13.8%増加、及び 4.3%増加)。

各 peak の網羅的解析に際して、溶媒対照群に対して増加あるいは減少(具体的にはそれぞれピーク高(各ピークにおける頂点部分においてマッピングされたリード数)が2倍以上、もしくは1/2以下)で、いずれかの高さ20以上、という条件にて抽出したところ、それぞれ(以下括弧内はピーク数で[増加、減少]をあらわす)、

抗 H3K4me3 抗体 (48、19)、  
抗 H3K27Ac 抗体 (191、50)、  
抗 H3K27me3 抗体 (160、1)、  
抗 H3K9me3 抗体 (627、6)、

という解析結果となった。このように、反復投与により有意な変化(増加あるいは減少)を示すヒストン修飾部位を抽出できた。

#### D. 考察

平成27年度は、本 DNA メチル化解析手法の性能評価を行った結果、Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit を利用する次世代シーケンサを用いた本解析法により、

DNA メチル化状態を網羅的に検討できることが確認できた。引き続き、四塩化炭素(平成27年度実施)あるいはクロフィブレート及びバルプロ酸ナトリウム塩(平成28年度実施)を14日間反復投与した際の肝サンプルについて DNA メチル化状態を網羅的に解析中である。現在までの結果では、化学物質を反復投与したマウスを N=3 で、網羅的に DNA メチル化解析を行っている。N=3 の全ての個体で DNA メチル化が変化する領域は見いだせていないが、N=1 および N=2 で DNA メチル化が変化する領域は得られている。網羅的に DNA メチル化解析を行っているが、シーケンスされる領域にはばらつきがあり、リード数の少ない領域も存在する。リード数が少ないことが原因で、N=3 で DNA メチル化が変化する領域を見いだせていない可能性も考えられるので、N=2 もしくは N=1 で検出させた DNA メチル化に変化が見出されたゲノム領域については、各領域ごとに個別に PCR プライマーを設計し、DNA メチル化をより詳細に解析することが必要となる可能性も考えられる。また、DNA メチル化が遺伝子発現に重要な領域は、CpG アイランド周辺と想定されることから、アジレント・テクノロジー株式会社の Sure-Select テクノロジーを用いて CpG アイランドのゲノムのみを濃縮した上で、網羅的に DNA メチル化解析を行うことで、CpG アイランドのリード数を大幅に増やす(数十倍)ことが可能となるので、検討の余地はある。

平成29年度は、ChIP-Seq により反復投与により有意な変化を示すヒストン修飾部位を抽出しつつあり、基線反応の成立に関わる知見が得られるものと期待される。

## E. 結論

本研究は、ほぼ計画通りに進捗した。

平成 27 年度は、先ず本解析手法の性能評価を行った結果、Accel-NGS Methyl-Seq DNA Library Kit を利用する次世代シーケンサーを用いた本解析法により、DNA メチル化状態を網羅的に検討できることが確認できた。次いで、先行研究において取得済みの、溶媒(コーンオイル)を単回投与した際、及び四塩化炭素を 14 日間反復投与した際の、12 週齢の雄性 C57BL/6J マウスの肝サンプルについて、DNA メチル化状態を網羅的に解析した結果、現時点では、DNA メチル化状態が顕著に変化している部位は見いだされていないが、引き続き微細に DNA メチル化状態が変化する領域の見出す検討を継続している。平成 28 年度は、クロフィブレートまたはバルプロ酸ナトリウム塩を 14 日間反復投与した際の肝サンプルについて、DNA メチル化状態につき網羅的に解析中であり、現時点では、顕著に変化している部位は見いだされていないが、引き続き微細に DNA メチル化状態が変化する領域の見出す検討を継続している。この微細に DNA メチル化状態が変化する領域の見出す手法として Bismark および BSMAP を検討中である。また、測定時間の短縮化に向け、解析パイプラインの最適化等、改善策を検討する。

平成 29 年度は、ChIP-Seq により反復投与により有意な変化を示すヒストン修飾部位を抽出し、より詳細な解析により、基線反応の成立に関わる知見が得られるものと期待される。これまでに得られた示唆として、H3K27me3 は、DNA メチル化非依存的に遺伝子発現を抑制することが知られるが、四塩化炭素の 14 日間反復投与の際に、

13.8%も peak 数が上昇していることから、H3K27me3 が反復投与による遺伝子発現の低下に寄与していることが示唆された。

これらの検討結果により、反復投与時の過渡反応を修飾する基線反応の成立への、当該遺伝子の発現修飾機構(所謂 Epigenetics)の関与について明らかになるものとする。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Furukawa Y, Tanemura K, Igarashi K, deta-Otsuka M, Aisaki K, Kitajima S, Kitagawa M, Kanno J. Learning and memory deficits in male adult mice treated with a benzodiazepine sleep-inducing drug during the juvenile period. *Front Neurosci* 10: 339- ,2016.

Ono R., Ishii M., Fujihara Y., Kitazawa M., Usami T., Kaneko-Ishino T., Kanno J., Ikawa M., Ishino F. Double strand break repair by capture of retrotransposon sequences and reverse-transcribed spliced mRNA sequences in mouse zygotes. *Scientific Reports* 2015 Jul 28;5:12281.

Irie M., Yoshikawa M., Ono R., Iwafune H., Furuse T., Yamada I., Wakana S., Yamashita Y., Abe T., Ishino F., Kaneko-Ishino T. Cognitive Function Related to the Sirh11/Zcchc16 Gene Acquired from an LTR Retrotransposon in Eutherians. *PLoS Genetics* 2015 Sep 24;11(9):e1005521.



## 2. 学会発表

Satoshi Kitajima, Kentaro Tanemura, Jun Kanno, Neurobehavioral toxicity at adult period induced by neonicotinoid pesticides exposure at juvenile period of male mice. (2018.3.12) SOT 2018, San Antonio, USA

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki Interferon signaling chemical, pentachlorophenol, identified by Percellome Toxicogenomics Project. (2018.3.12) SOT 2018, San Antonio, USA

Ryuichi Ono, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Satoshi Kitajima, Jun Kanno, and Yoko Hirabayashi, Double Strand Break Repair by Capture of Unintentional Sequences, an Emerging New Possible Risk for the Leading-Edge Technology, (2018.3.12) SOT 2018, San Antonio, USA, poster

Ryuichi Ono, Keiko Tano, Satoshi Yasuda, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, , Satoshi Kitajima, Jun Kanno Yoji Sato and Yoko Hirabayashi, An emerging new possible risk of genome editing for human gene therapy, (2018.1.31) Keystone Symposia Conference / Precision Genome Editing with Programmable Nuclease, Colorado, USA, poster

Ryuichi Ono, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Yoko Hirabayashi, Satoshi

Kitajima, and Jun Kanno, Double strand break repair by capture of unintentional sequences, an emerging new risk for the leading-edge technology, (2017.1.8), Keystone Symposia Conference / Precision Genome Engineering, Colorado, USA, poster

相崎健一、小野竜一、北嶋聡、菅野純, 反復曝露試験における ncRNA 発現変動と DNA メチル化修飾の解析, 第 44 回日本毒性学会学術年会 (2017.7.11) 横浜, 口演

Ryuichi Ono, Yukuto Yasuhiko, Kenichi Aisaki, Yoko Hirabayashi, Satoshi Kitajima, and Jun Kanno, Double strand break repair by capture of unintentional sequences and a novel mechanism of genome evolution, The 4th JSEV Annual Meeting (2017.8.30) Hirosaki, Japan, poster

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Jun Kanno, Progress of Percellome Toxicogenomics Project, and the use of Garuda Platform as a tool for Open Toxicology. OpenTox Asia Conference 2017 (2017.5.17.), Daejeon, Korea

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Percellome Toxicogenomics for the mechanistic prediction of chemical toxicity., the 8th National Congress of Toxicology (V-III CSOT), (2017.10.16) Jinan, China, keynote

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Interferon signaling chemicals

identified by Percellome Toxicogenomics Project., Eurotox 2017, Bratislava, Slovakia(2017. 9. 13) poster

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Jun Kanno, Lung Percellome Project: Profile analysis of Sick-Building-Syndrome level inhalation and oral exposure data for prediction of lung toxicity.

第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016. 6. 29)

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Jun Kanno, Percellome Project on Sick-Building-Syndrome level inhalation for the prediction of lung and brain involvement. 14th International Congress of Toxicology 2016 (ICT 2016) (2016. 10. 3), Merida, Mexico

菅野 純、相崎 健一、北嶋 聡

Percellome Project の進捗 – 単回および新

型反復曝露の比較による予測性向上 –

第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016. 7. 1)

Jun Kanno, Satoshi Kitajima, Ken-Ichi Aisaki, Percellome Toxicogenomics of Newly Designed Repeated Dose Study.

The 52nd Congress of EUROTOX (EUROTOX2016) (2016. 9. 6), Seville, Spain.

種村 健太郎、古川 佑介、北嶋 聡、菅野 純  
キシレンの経気道吸入曝露によるマウス行動  
影響解析

第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016. 6. 30)

種村 健太郎、古川 佑介、北嶋 聡、菅野 純

キシレン吸入曝露によるマウスへの中枢機能  
影響解析

第 159 回日本獣医学会学術集会 (2016. 9. )

Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki and Jun Kanno, Dynamic biomarkers translatable to clinical outcomes generated by Percellome Toxicogenomics, The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology (ASIATOX2015) (2015. 6. 24), Jeju, Korea

北嶋 聡、種村 健太郎、菅野 純

医療現場への還元に向けた Percellome  
Toxicogenomics による中枢神経毒性の動的バ  
イオマーカー抽出研究

第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015. 6. 29)

北嶋 聡、種村健太郎、古川佑介、小川幸男、  
高橋祐次、大西 誠、相磯成敏、相崎健一、菅  
野 純

シックハウス症候群レベルの極低濃度曝露の  
際の海馬における Percellome 法による吸入  
トキシコゲノミクスと遅発性中枢影響解析

第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015. 6. 30)

菅野 純、相崎 健一、北嶋 聡

Percellome Toxicogenomics における動的バ  
イオマーカー (Dynamic Biomarker) のカタロ  
グ化とその毒性予測利用

第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015. 7. 1)

Ono, R.

Double strand break repair by capture of  
retrotransposon and mRNA sequences via  
reverse transcription in the mouse zygote.

FASEB "Mobile DNA in Mammalian Genomes",  
Palm Beach (2015.6.)

H. 知的財産所有権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし