プログラミング効率を増幅する約3d個の転写因子をレトロウイルスペクターで一つずつ加え、その中から特殊心筋細胞のマーカーであるCntn2とScn5aの発現を顕著に上昇させるFOXL1という動写因子を同定した。次に心筋リプログラミング因子にFOXL1を加えた心筋機細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連する遺伝子が全体的に強く誘導されていることが確認できた。また、ChIP-seap解析でもFOXL1は心室利途保予遺伝子が全体的に強く誘導されていることが確認できた。また、ChIP-seap解析でもFOXL1は心室利達ス事選に分野が近後に結合し、エンハンサーを活性化することが判明した。以上より、我々はマルチオミクス解析を用いてFOXL1が心筋リプログラミング中に心室刺激伝導系に関連した転写ネットワークを活性化することを明らかにした。 FOXL1は主に消化管に発現しているが、心臓にも発現している。しかし心臓における機能は未解析がの興味深い転写因子である。そのため、今後はFOXL1が心筋りが上の透解しま解すがの異味深い転写因子である。そのため、今後はFOXL1が心筋分化に及ぼす影響を解析するために、Tet-On発現第ネンテンを用いて分化段階与FOXL1の発現を誘導するか確認する予定である。。 We have worked on studying the molecular mechanisms by which fibroblasts are directly reprogrammed to cardiomyocytes and established novel strategies to enhance the reprogramming efficiency. We also employed a genome-wide approach to study the enhancer dynamics during cardiac reprogramming, which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming ould be a useful tool to decipher new transcriptional networks during heart development and cellular differentiation. In this study, we aim to establish a novel method to induce cardiac conduction system (CCS) cells from pluripotent stem cells based on findings from direct reprogramming. First, we chose 30 transcription factors from our previous study which activate the cardiac transcriptional network, to screen for factors which can activate the transcriptional network of CCS cells during direct cardiac reprogramming. We found that FOXL1 significantly activates the expression of CCS markers Cntn2 and Scn5a. Whole transcriptome sequencing and gene ontology analysis also demonstrated a global activation of the CCS transcriptional network. Next, we performed chromatin immunoprecipitation (ChIP)-seq of FOXL1 during reprogramming. Interestingly, this epigenetic analysis also showed that FOXL1 activates enhancers which are in the vicinity of CCS related genes. FOXL1 is enriched in the GI tract but also expressed i	Title	ダイレクトリプログラミングを利用した心臓刺激伝導系誘導因子の探索				
Publisher Publisher 東應義数大学 Publication year Abstract Abstra	Sub Title	Mining for transcriptional regulators of the cardiac conduction system based on cardiac				
Publication year Jatc DOI Abstract Abstra	Author					
Jal C DOI Abstract 本研究ではリプログラミングを初期スクリーニングに利用し、我々が同定した心筋リプログラミング誘導因子の中から特殊心筋細胞を誘導する因子を探索した。そしてこの日子を用いて、今度 よ多能性細胞から特殊心筋細胞を影響する因子を探索した。そしてこの日子を用いて、今度 よる能性細胞から特殊心筋細胞を影響する因子を探索した。そしてきるに関すを目いて、今度 よう能性細胞から特殊心筋細胞を影響する日本の状態調子の方式を関立し、in vivo解析では困難である 個体発生における刺激伝導系形成の新たな転写制御機構を解明することを目的として研究を行った。 我々はまずマウス線維芽細胞にレトロウイルスペクターを用いて心筋リプログラミング因子である Aktt、Gata4、Hand2、Mf2c、Tbx5を強制発現した。そしてさらに申請者がすて味噌もいプログラミング効率を増幅する約30億の転写因子とレトロウイルスペクターでつずつ加え、その中から特殊心筋細胞のマーカーであるChtn2とScn5aの発現を顕著に上野点を10人にしいう事 写因子を同定した。次に心筋リプログラミング日子にDXL1を加えたの終婚師のトランスクリフトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連した転昇速防・アランスリガトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連した転昇速に対していることが一般に対していることが一切のよりまた。以よより、我々はマルチンス解析を用いてFOXL1が心筋リプログラミング中に心室刺激伝導系に関連した転昇率が上で力を活性化することを明らかにした。FOXLは主に消化管に発現しているが、心臓にも発現している。したりに及ばす影響が有る方を多に大きのよりを表現しているが、心臓にも発現している。ために大きな場所であるように大きないでは、まずの機能は未解析の関係深い転写因子である。そのため、今後はFOXL1がの筋分化に及ぼす影響がある予定である。そのため、今後はFOXL1がの筋分化に及ぼす影響が有る方をした。FOXLの表別を表別を表別しているが、心臓にも発現しているが、心臓にも発現しているが、心臓にも発現しているが、心臓にも発現しているが、心臓にも発現しているが、心臓に対しているのでに大きないのでは、大きないのでは	Publisher	慶應義塾大学				
Abstract 本研究ではリプログラミングを初期スクリーニングに利用し、我々が同定した心筋リプログラミング誘導因子の中から特殊心筋細胞を誘導する因子を探索した。そしてこの因子を用いて、今度は多能性幹細胞から特殊心筋細胞を効率的に分化誘導する方法を樹立し、in vivo解析では困難である個体発生における刺激伝導系形成の新たな転写制御機構を解明することを目的として研究を行った。 我々はまずマウス線維芽細胞にレトロウイルスペクターを用いて心筋リプログラミング因子であるAkt1、Gata4、Hand2、Mef2c、Tbx5を強制発現した。そしてさらに申請者がすてに報告したリプログラミング効率を増幅する約30個の転写因子をレトロウイルスペクターで一つずつ加え、その中から特殊心筋細胞のマーカーであるChtn2とSonsの発現を顕著に上身をFOXL1という数写因子を同定した。次に心筋リプログラミング因子にFOXL1を加えた心筋機細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連する遺伝子をOXL1を対象では高いていることが確認できた。また、ChIP-sed解析でもFOXL1は心室刺激伝導系に関連したを受け、エアンスリリプトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連した転写ネッフクを活性化することが判明した。以上より、我々はマルチオミクス解析を用いてFOXL1が心筋リプログラミングロチに下OXL1を加速に対することを明らかにした。FOXL1は主に消化管孔見しているが、心臓に争発している。しかし心臓における機能は未解析の興味深い転写因子である。そのため、今後はFOXL1が心筋分化に及ぼす影響を解析するために、Tet-On発表等システムを用いて分化段階句にFOXL1の発現を誘導するが指する子定である。 We have worked on studying the molecular mechanisms by which fibroblasts are directly reprogrammed to cardiomyocytes and established novel strategies to enhance the reprogramming efficiency. We also employed a genome-wide approach to study the enhancer dynamics during cardiac reprogramming, which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and beart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and beart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development by a subject of the CCS transcriptional network during heart development and cellular differentiation. In this study, we aim to establish a novel method to induce cardiac reprogramming. Which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming sald sease on the foxe of the count of the CCS transcriptional network. Next, we chose 30 transcription factors from	Publication year					
Abstract 本研究ではリプログラミングを初期スクリーニングに利用し、我々が同定した心筋リプログラミング誘導因子の中から特殊心筋細胞を誘導する因子を探索した。そしてこの因子を用いて、今度は多能性幹細胞から特殊心筋細胞を効率的に分化誘導する方法を樹立し、in vivo解析では困難である個体発生における刺激伝導系形成の新たな転写制御機構を解明することを目的として研究を行った。 我々はまずマウス線維芽細胞にレトロウイルスペクターを用いて心筋リプログラミング因子であるAkt1、Gata4、Hand2、Mef2c、Tbx5を強制発現した。そしてさらに申請者がすてに報告したリプログラミング効率を増幅する約30個の転写因子をレトロウイルスペクターで一つずつ加え、その中から特殊心筋細胞のマーカーであるChtn2とSonsの発現を顕著に上身をFOXL1という数写因子を同定した。次に心筋リプログラミング因子にFOXL1を加えた心筋機細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連する遺伝子をOXL1を対象では高いていることが確認できた。また、ChIP-sed解析でもFOXL1は心室刺激伝導系に関連したを受け、エアンスリリプトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連した転写ネッフクを活性化することが判明した。以上より、我々はマルチオミクス解析を用いてFOXL1が心筋リプログラミングロチに下OXL1を加速に対することを明らかにした。FOXL1は主に消化管孔見しているが、心臓に争発している。しかし心臓における機能は未解析の興味深い転写因子である。そのため、今後はFOXL1が心筋分化に及ぼす影響を解析するために、Tet-On発表等システムを用いて分化段階句にFOXL1の発現を誘導するが指する子定である。 We have worked on studying the molecular mechanisms by which fibroblasts are directly reprogrammed to cardiomyocytes and established novel strategies to enhance the reprogramming efficiency. We also employed a genome-wide approach to study the enhancer dynamics during cardiac reprogramming, which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and beart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and beart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming and heart development by a subject of the CCS transcriptional network during heart development and cellular differentiation. In this study, we aim to establish a novel method to induce cardiac reprogramming. Which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming sald sease on the foxe of the count of the CCS transcriptional network. Next, we chose 30 transcription factors from		学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)				
ング誘導因子の中から特殊心筋細胞を誘導する因子を探索した。そしてこの因子を用いて、今度は多能性幹細胞から特殊心筋細胞を効率的に分化誘導する方法を樹立し、in vivo解析では困難である個体発生における刺激性導来形成の新たな転写制御機構を解明することを目的として研究を行った。我々はまずマウス線維芽細胞にレトロウイルスペクターを用いて心筋リプログラミング効果を増幅する約30個の転写因子をしトロウイルスペクターを用いて心筋リプログラミング効果を増幅する約30個の転写因子をしトロウイルスペクターを用いて心筋リプログラミングが事を増幅する約30個の転写因子をしトロウイルスペクターを用いてから特殊心筋細胞のマーカーであるChttn2とScn5aの発現を顕著に上昇させるFOXL1という範写因子を同定した。次に心筋リプログラミング切とFFOXL1を加えた心筋様細胞のアーカーであるChttn2とScn5aの発現を顕著に上昇させるFOXL1という範写因子を同定した。次に心筋リプログラミング切と下FOXL1を加えた心筋様細胞のトランスクリプトー人解析を行ったところ。Qの解析でもFOXL1は、空刺激伝導系遺伝子群の近傍に結合し、エンハンサーを活性化することが明明した。以上は、我々はアオテミクス解析を用いてFOXL1が心筋リプログラミング中に心室刺激伝導系に関連した転写ネットワークを活性化することを明らかにした。FOXL1は主に消化管に発現しているが、心臓にも発現している。しかし心臓における機能は未解析の興味深い転写因子である。そのため、今後はFOXL1が心筋分化に及ぼす影響を解析するために、Tet-Cn発現影響システムを用いて分化の発電にFOXL1が心筋分化に及ぼす影響を解析するために、Tet-Cn発現影響システムを用いて分化の発電に下のXL1の発現を誘導するか確認する予定である。 We have worked on studying the molecular mechanisms by which fibroblasts are directly reprogrammed to cardiomyocytes and established novel strategies to enhance the reprogramming efficiency. We also employed a genome-wide approach to study the enhancer dynamics during cardiac reprogramming, which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming ould be a useful tool to decipher new transcriptional networks during heart development and cellular differentiation. In this study, we aim to establish a novel method to induce cardiac conduction system (CCS) cells from pluripotent stem cells based on findings from direct reprogramming. First, we chose 30 transcription factors from our previous study which activate the cardiac transcriptional network, to screen for factors which can activate the transcriptional network of CCS cells during direct cardiac reprogramming. We found that FOXL1 significantly activates the expression of CCS markers Chuz and Scn5a. Whole transcriptional network of CCS cells during direct cardiac reprogramming. We found that FOXL1 significantly activates the expression of CCS markers Chuz and Scn5a. Whole transcriptione sequency and gene ontology analysis also demonstrated a global activation of t	JaLC DOI					
reprogrammed to cardiomyocytes and established novel strategies to enhance the reprogramming efficiency. We also employed a genome-wide approach to study the enhancer dynamics during cardiac reprogramming, which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming could be a useful tool to decipher new transcriptional networks during heart development and cellular differentiation. In this study, we aim to establish a novel method to induce cardiac conduction system (CCS) cells from pluripotent stem cells based on findings from direct reprogramming. First, we chose 30 transcription factors from our previous study which activate the cardiac transcriptional network, to screen for factors which can activate the transcriptional network of CCS cells during direct cardiac reprogramming. We found that FOXL1 significantly activates the expression of CCS markers Cntn2 and Scn5a. Whole transcriptome sequencing and gene ontology analysis also demonstrated a global activation of the CCS transcriptional network. Next, we performed chromatin immunoprecipitation (ChIP)-seq of FOXL1 during reprogramming. Interestingly, this epigenetic analysis also showed that FOXL1 activates enhancers which are in the vicinity of CCS related genes. FOXL1 is enriched in the GI tract but also expressed in the heart. However, its function in the cardiovascular system has not been reported. Hence, we will induce the expression of FOXL1 in pluripotent stem cells at different stages and define the optimal condition to induce CCS cells. Establishing a method to induce cardiomyocytes in the CCS will expand the potential of pluripotent stem cells in regenerative medicine. Our study will uncover the molecular mechanisms of arrhythmic heart disease by particularly focusing on the CCS, and will give rise to valuable resources for drug screening and clinical application.		ング誘導因子の中から特殊心筋細胞を誘導する因子を探索した。そしてこの因子を用いて、今度は多能性幹細胞から特殊心筋細胞を効率的に分化誘導する方法を樹立し、in vivo解析では困難である個体発生における刺激伝導系形成の新たな転写制御機構を解明することを目的として研究を行った。 我々はまずマウス線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて心筋リプログラミング因子であるAkt1、Gata4、Hand2、Mef2c、Tbx5を強制発現した。そしてさらに申請者がすでに報告したリプログラミング効率を増幅する約30個の転写因子をレトロウイルスベクターで一つずつ加え、その中から特殊心筋細胞のマーカーであるCntn2とScn5aの発現を顕著に上昇させるFOXL1という転写因子を同定した。次に心筋リプログラミング因子にFOXL1を加えた心筋様細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、GO解析で心室刺激伝導系に関連する遺伝子が全体的に強く誘導されていることが確認できた。また、ChIP-seq解析でもFOXL1は心室刺激伝導系遺伝子群の近傍に結合し、エンハンサーを活性化することが判明した。以上より、我々はマルチオミクス解析を用いてFOXL1が心筋リプログラミング中に心室刺激伝導系に関連した転写ネットワークを活性化することを明らかにした。FOXL1は主に消化管に発現しているが、心臓にも発現している。しかし心臓における機能は未解析の興味深い転写因子である。そのため、今後はFOXL1が心筋分化に及ぼす影響を解析するために、Tet-On発現誘導システムを用いて分化段階毎にFOXL1の発現を誘導し、免疫染色法とqPCR法等を用いてCntn2やScn5a等の心室刺激伝導系マーカーの発現を誘導するか確認する予定である。				
expression of CCS markers Cntn2 and Scn5a. Whole transcriptome sequencing and gene ontology analysis also demonstrated a global activation of the CCS transcriptional network. Next, we performed chromatin immunoprecipitation (ChIP)-seq of FOXL1 during reprogramming. Interestingly, this epigenetic analysis also showed that FOXL1 activates enhancers which are in the vicinity of CCS related genes. FOXL1 is enriched in the GI tract but also expressed in the heart. However, its function in the cardiovascular system has not been reported. Hence, we will induce the expression of FOXL1 in pluripotent stem cells at different stages and define the optimal condition to induce CCS cells. Establishing a method to induce cardiomyocytes in the CCS will expand the potential of pluripotent stem cells in regenerative medicine. Our study will uncover the molecular mechanisms of arrhythmic heart disease by particularly focusing on the CCS, and will give rise to valuable resources for drug screening and clinical application. Notes Research Paper		reprogrammed to cardiomyocytes and established novel strategies to enhance the reprogramming efficiency. We also employed a genome-wide approach to study the enhancer dynamics during cardiac reprogramming, which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming could be a useful tool to decipher new transcriptional networks during heart development and cellular differentiation. In this study, we aim to establish a novel method to induce cardiac conduction system (CCS) cells from pluripotent stem cells based on findings from direct reprogramming. First, we chose 30 transcription factors from our previous study which activate the cardiac transcriptional network, to screen for factors which can activate the transcriptional network of CCS				
cardiovascular system has not been reported. Hence, we will induce the expression of FOXL1 in pluripotent stem cells at different stages and define the optimal condition to induce CCS cells. Establishing a method to induce cardiomyocytes in the CCS will expand the potential of pluripotent stem cells in regenerative medicine. Our study will uncover the molecular mechanisms of arrhythmic heart disease by particularly focusing on the CCS, and will give rise to valuable resources for drug screening and clinical application. Notes Genre Research Paper		expression of CCS markers Cntn2 and Scn5a. Whole transcriptome sequencing and gene ontology analysis also demonstrated a global activation of the CCS transcriptional network. Next, we performed chromatin immunoprecipitation (ChIP)-seq of FOXL1 during reprogramming. Interestingly, this epigenetic analysis also showed that FOXL1 activates enhancers which are in the vicinity of CCS related genes.				
Genre Research Paper		cardiovascular system has not been reported. Hence, we will induce the expression of FOXL1 in pluripotent stem cells at different stages and define the optimal condition to induce CCS cells. Establishing a method to induce cardiomyocytes in the CCS will expand the potential of pluripotent stem cells in regenerative medicine. Our study will uncover the molecular mechanisms of arrhythmic heart disease by particularly focusing on the CCS, and will give rise to valuable				
	Notes					
URL https://koara.lib.kejo.ac.ip/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200272	Genre	Research Paper				
- The state of the	URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200272				

保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2020 年度 学事振興資金 (個人研究) 研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部中央診療施設等	職名	助教(有期・医学部)	L-P-triL about	500 (特B)千円
	氏名	橋本 寿之	氏名 (英語)	Hisayuki Hashimoto	補助額	300 (14D) 111

研究課題 (日本語)

ダイレクトリプログラミングを利用した心臓刺激伝導系誘導因子の探索

研究課題 (英訳)

Mining for transcriptional regulators of the cardiac conduction system based on cardiac reprogramming

1. 研究成果実績の概要

本研究ではリプログラミングを初期スクリーニングに利用し、我々が同定した心筋リプログラミング誘導因子の中から特殊心筋細胞を 誘導する因子を探索した。そしてこの因子を用いて、今度は多能性幹細胞から特殊心筋細胞を効率的に分化誘導する方法を樹立し、 in vivo 解析では困難である個体発生における刺激伝導系形成の新たな転写制御機構を解明することを目的として研究を行った。

我々はまずマウス線維芽細胞にレトロウイルスベクターを用いて心筋リプログラミング因子である Akt1、Gata4、Hand2、Mef2c、Tbx5を強制発現した。そしてさらに申請者がすでに報告したリプログラミング効率を増幅する約30個の転写因子をレトロウイルスベクターで一つずつ加え、その中から特殊心筋細胞のマーカーである Cntn2 と Scn5a の発現を顕著に上昇させる FOXL1 という転写因子を同定した。次に心筋リプログラミング因子に FOXL1 を加えた心筋様細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、GO 解析で心室刺激伝導系に関連する遺伝子が全体的に強く誘導されていることが確認できた。また、ChIP-seq 解析でも FOXL1 は心室刺激伝導系遺伝子群の近傍に結合し、エンハンサーを活性化することが判明した。以上より、我々はマルチオミクス解析を用いて FOXL1 が心筋リプログラミング中に心室刺激伝導系に関連した転写ネットワークを活性化することを明らかにした。

FOXL1 は主に消化管に発現しているが、心臓にも発現している。しかし心臓における機能は未解析の興味深い転写因子である。そのため、今後は FOXL1 が心筋分化に及ぼす影響を解析するために、Tet-On 発現誘導システムを用いて分化段階毎に FOXL1 の発現を誘導し、免疫染色法と qPCR 法等を用いて Cntn2 や Scn5a 等の心室刺激伝導系マーカーの発現を誘導するか確認する予定である。

2. 研究成果実績の概要(英訳)

We have worked on studying the molecular mechanisms by which fibroblasts are directly reprogrammed to cardiomyocytes and established novel strategies to enhance the reprogramming efficiency. We also employed a genome-wide approach to study the enhancer dynamics during cardiac reprogramming, which revealed a common epigenetic signature between cardiac reprogramming and heart development. Based on our findings, we surmised that direct reprogramming could be a useful tool to decipher new transcriptional networks during heart development and cellular differentiation. In this study, we aim to establish a novel method to induce cardiac conduction system (CCS) cells from pluripotent stem cells based on findings from direct reprogramming.

First, we chose 30 transcription factors from our previous study which activate the cardiac transcriptional network, to screen for factors which can activate the transcriptional network of CCS cells during direct cardiac reprogramming. We found that FOXL1 significantly activates the expression of CCS markers Cntn2 and Scn5a. Whole transcriptome sequencing and gene ontology analysis also demonstrated a global activation of the CCS transcriptional network.

Next, we performed chromatin immunoprecipitation (ChIP)-seq of FOXL1 during reprogramming. Interestingly, this epigenetic analysis also showed that FOXL1 activates enhancers which are in the vicinity of CCS related genes.

FOXL1 is enriched in the GI tract but also expressed in the heart. However, its function in the cardiovascular system has not been reported. Hence, we will induce the expression of FOXL1 in pluripotent stem cells at different stages and define the optimal condition to induce CCS cells.

Establishing a method to induce cardiomyocytes in the CCS will expand the potential of pluripotent stem cells in regenerative medicine. Our study will uncover the molecular mechanisms of arrhythmic heart disease by particularly focusing on the CCS, and will give rise to valuable resources for drug screening and clinical application.

3. 本研究課題に関する発表							
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)				