

領域略称名：ゲノムモダリティ  
領域番号：30A305

令和5年度  
科学研究費助成事業「学術変革領域研究（A）」  
に係る中間評価報告書

「DNAの物性から理解するゲノムモダリティ」

領域設定期間

令和2年度～令和6年度

令和5年6月

領域代表者 京都大学・大学院理学研究科・教授・西山 朋子

# 目 次

## **研究組織**

1	総括班・総括班以外の計画研究	2
2	総括班・総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者	3
3	公募研究	7

## **研究領域全体に係る事項**

4	研究領域の目的及び概要	10
5	審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	12
6	研究の進展状況及び主な成果	14
7	研究発表の状況	28
8	研究組織の連携体制	33
9	若手研究者の育成に係る取組状況	34
10	アウトリーチ活動に係る取組状況	35
11	研究費の使用状況・計画	36
12	今後の研究領域の推進方策	37
13	総括班評価者による評価	39

**研究組織**

(令和5年6月末現在。ただし完了又は廃止した研究課題は完了・廃止時現在。)

**1 総括班及び総括班以外の計画研究**

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数[2]
X00 総	20H05933 DNAの物性から理解するゲノムモダリティ	西山 朋子	京都大学・大学院理学研究科・教授	17
A01-1 計	20H05934 ゲノムモダリティのマルチスケール理論	高田 彰二	京都大学・大学院理学研究科・教授	4
A01-2 計	20H05935 DNA ナノスケールのモダリティ	瀧ノ上 正浩	東京工業大学・情報理工学院・教授	2
A02-1 計	20H05936 ヌクレオソーム動態のモダリティ	前島 一博	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授	4
A02-2 計	20H05937 間期ゲノム構造のモダリティ	西山 朋子	京都大学・大学院理学研究科・教授	1
A02-3 計	20H05938 分裂期染色体のモダリティ	平野 達也	理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員	1
A03-1 計	20H05939 配偶子のゲノムモダリティと疾患	岡田 由紀	東京大学・定量生命科学研究所・教授	2
A03-2 計	20H05940 発生・分化のゲノムモダリティと疾患	白髭 克彦	東京大学・定量生命科学研究所・教授	3
<b>総括班及び総括班以外の計画研究 計 8 件 (廃止を含む)</b>				

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 2 総括班及び総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者

研究項目：X00

研究課題名：DNAの物性から理解するゲノムモダリティ

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	西山 朋子	京都大学・大学院理学研究科・教授	領域の総括
分担	高田 彰二	京都大学・大学院理学研究科・教授	広報
分担	剣持 貴弘	同志社大学生命医科学部医工学科・教授	広報
分担	山本 哲也	北海道大学化学反応創成研究拠点・特任准教授	広報
分担	瀧ノ上 正浩	東京工業大学・情報理工学院・教授	若手支援
分担	鈴木 宏明	中央大学 理工学部 精密機械工学科・教授	若手支援
分担	平野 達也	理化学研究所 開拓研究本部・主任研究員	国際会議企画
分担	石本 志高	秋田県立大学システム科学技術学部・教授	国際会議企画
分担	泉 幸佑	東京大学・定量生命科学研究所・客員准教授	国際会議企画
分担	前島 一博	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授	国内会議企画
分担	日比野 佳代	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・助教	国内会議企画
分担	元池 郁子	東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・准教授	国内会議企画
分担	岡田 由紀	東京大学・定量生命科学研究所・教授	女性支援
分担	白髭 克彦	東京大学・定量生命科学研究所・教授	共同研究支援
分担	杉山 弘	京都大学・理学研究科・名誉教授	共同研究支援
分担	朴 聖俊	東京大学・医科学研究所・准教授	共同研究支援
分担	谷口 雄一	京都大学高等研究院・物質一細胞統合システム拠点・教授	アウトリーチ
合計 17 名			



**研究項目：A01-1**

**研究課題名：ゲノムモダリティのマルチスケール理論**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	高田 彰二	京都大学・大学院理学研究科・教授	マルチスケールシミュレーション、全体の統括
分担	石本 志高	秋田県立大学システム科学技術学部・教授	理論・数理モデルの構築、理論解析、データ解析
分担	剣持 貴弘	同志社大学生命医科学部医工学科・教授	物理モデル構築、シミュレーション解析、DNA 高次構造転移実験
分担	山本 哲也	北海道大学化学反応創成研究拠点・特任准教授	理論モデル構築、理論解析
合計 4 名			

**研究項目：A01-2**

**研究課題名：DNA ナノスケールのモダリティ**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	瀧ノ上 正浩	東京工業大学・情報理工学大学院・教授	DNA ナノテクノロジーによる人工染色体・人工クロマチンの構築・物性計測
分担	鈴木 宏明	中央大学・理工学部・教授	マイクロ流体デバイスを用いた人工膜形成による人工細胞核モデルの構築と制御
合計 2 名			

**研究項目：A02-1**

**研究課題名：ヌクレオソーム動態のモダリティ**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	前島 一博	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授	A02-1 の統括。ヌクレオソームイメージングによるクロマチンドメインの実体解明。ヌクレオソーム動態からの細胞状態・不全、コヒーシオン、コンデンシンの機能理解。
分担	日比野 佳代	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・助教	ヌクレオソーム動態からの分裂期染色体凝集過程の解明。
分担	杉山 弘	京都大学・大学院理学研究科・名誉教授	高速 AFM による <i>in vitro</i> イメージング・ポリアミド PIP を用いたヌクレオソーム解析。
分担	谷口 雄一	京都大学高等研究院・物質一細胞統合システム拠点・教授	Hi-CO 法によりヒト培養細胞のゲノムでの構造解析法の確立。
合計 4 名			

**研究項目：A02-2****研究課題名：間期ゲノム構造のモダリティ**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	西山 朋子	京都大学・大学院理学研究科・教授	研究の立案と総括
合計 1 名			

**研究項目：A02-3****研究課題名：分裂期染色体のモダリティ**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	平野 達也	理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員	研究の立案と総括
合計 1 名			

**研究項目：A03-1****研究課題名：配偶子のゲノムモダリティと疾患**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	岡田 由紀	東京大学・定量生命科学研究科・教授	研究全体の総括、ウェット実験の実施、データ取り纏め
分担	元池 郁子	東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・准教授	データ解析（NGS、画像等）、ビッグデータ管理
合計 2 名			

**研究項目：A03-2****研究課題名：発生・分化のゲノムモダリティと疾患**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	白髭 克彦	東京大学・定量生命科学研究科・教授	本課題のとりまとめと、 <i>in vitro</i> 系を用いたコヒーシオン病疾患患者の転写異常の再現。ゲノムワイド解析による疾患の分子メカニズムと疾患の根本原因の追求。
分担	朴 聖俊	東京大学・医科学研究科・ヒトゲノム解析センター・准教授	白髭、泉より算出されるゲノムデータの解析とそれをもとにした、データベース及び疾患モデルの考案、設計。

分担	泉 幸佑	東京大学・定量生命科学研究 所・客員准教授	クロマチン関連因子の変異による新規希少疾患の同定と、ゲノムワイド解析によるその分子メカニズムの探求。コヒーシン病との遺伝学的な関連の追求。
合計 3 名			

### 3 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01-1 公	21H05765 (第1期) 曲げとねじれのモードカップリングを通して、分裂期染色体の凝縮を理解する	令和3年度 ～ 令和4年度	横田 宏	理化学研究所・数理創造プログラム・研究員	1
A01-1 公	23H04298 (第2期) ねじれを伴う高分子の運動モードを用いて、染色体形成を理解する	令和5年度 ～ 令和6年度	横田 宏	京都大学・大学院人間・環境学研究科・研究員	1
A01-1 公	21H05756 (第1期) ヌクレオソームDNAとヒストンテイル間の動的な相互作用解析	令和3年度 ～ 令和4年度	古川 亜矢子	横浜市立大学・大学院生命医科学研究科・特任助教	1
A01-1 公	23H04289 (第2期) クロマトソーム中のヒストンテイルとDNA間の動的相互作用解析	令和5年度 ～ 令和6年度	古川 亜矢子	京都大学・大学院農学研究科・准教授	1
A01-1 公	21H05759 (第1期) DNAメカニクスのマルチスケールモデル	令和3年度 ～ 令和4年度	坂上 貴洋	青山学院大学・理工学部・准教授	1
A01-1 公	23H04290 (第2期) 複数自由度系の相分離から見るゲノム高次構造形成原理の解明	令和5年度 ～ 令和6年度	坂上 貴洋	青山学院大学・理工学部・准教授	1
A01-1 公	21H05746 (廃止) (第1期) NMRによる二本鎖DNAの局所的な構造ゆらぎの研究	令和3年度 ～ 令和4年度	菅瀬 謙治	京都大学・工学系研・准教授	1
A01-2 公	21H05744 (第1期) 核膜孔テリトリーにおけるゲノムモダリティ	令和3年度 ～ 令和4年度	WONG W・R	金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授	1
A01-2 公	23H04278 (第2期) 核膜孔テリトリーにおけるゲノムモダリティ 2.0	令和5年度 ～ 令和6年度	WONG W・R	金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授	1
A01-2 公	21H05748 (第1期) 細胞周期が司る葉緑体核様体の固体-液体相転移の分子機構を探る	令和3年度 ～ 令和4年度	西村 芳樹	京都大学・大学院理学研究科・助教	1
A01-2 公	21H05764 (第1期) エピゲノムの修飾密度と分子内相互作用による転写バースト形成の再構成的理解	令和3年度 ～ 令和4年度	梅原 崇史	理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー	1
A02-1 公	221H05763 (第1期) 流体力学的相互作用下における3次元ゲノム組織化のモダリティ	令和3年度 ～ 令和4年度	新海 創也	理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員	1

A02-1 公	23H04297 (第2期) Hi-C データに基づいたクロマチンの粘弾性とループ形成のモデリティ	令和5年度 ～ 令和6年度	新海 創也	理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員	1
A02-1 公	23H04287 (第2期) 核質の分子動態がクロマチン機能に与える影響の検証	令和5年度 ～ 令和6年度	原 裕貴	山口大学・大学院創成科学研究科・講師	1
A02-1 公	23H04294 (第2期) 個体の分化過程における核内ゲノムDNAの運動測定を用いた構造物性の評価	令和5年度 ～ 令和6年度	木村 暁	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授	1
A02-2 公	21H05757 (第1期) ミスマッチ修復におけるゲノムモデリティの構造生物学的解明	令和3年度 ～ 令和4年度	原 幸大	静岡県立大学・薬学部・講師	1
A02-2 公	23H04274 (第2期) 核内空間位置とゲノム脆弱性の関係性の解明	令和5年度 ～ 令和6年度	安原 崇哲	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教	1
A02-2 公	23H04295 (第2期) DNA 損傷により崩壊した複製を再生するサルベージ経路の再構成検証	令和5年度 ～ 令和6年度	村山 泰斗	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・准教授	1
A02-3 公	21H05752 (第1期) セントロメアモデリティの理解	令和3年度 ～ 令和4年度	深川 竜郎	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	1
A02-3 公	23H04282 (第2期) セントロメアモデリティの理解	令和5年度 ～ 令和6年度	深川 竜郎	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	1
A02-3 公	21H05747 (第1期) 第三の生物ドメイン「アーキア」がもつ機能未知 SMC 様タンパク質の研究	令和3年度 ～ 令和4年度	竹俣 直道	京都大学・大学院工学研究科・助教	1
A02-3 公	23H04281 (第2期) アーキアコンデンシンとDNA超らせんによる染色体構造制御	令和5年度 ～ 令和6年度	竹俣 直道	京都大学・大学院工学研究科・助教	1
A02-3 公	21H05738 (第1期) 染色体分配に最適化した分裂期染色体の物性の解明	令和3年度 ～ 令和4年度	田中 耕三	東北大学・加齢医学研究所・教授	1
A02-3 公	23H04272 (第2期) 分裂期染色体の可塑性が染色体分配に及ぼす影響の解明	令和5年度 ～ 令和6年度	田中 耕三	東北大学・加齢医学研究所・教授	1
A02-3 公	21H05739 (第1期) RNA/コンデンシン I の液-液相分離による分裂期染色体制御機構の解明	令和3年度 ～ 令和4年度	木村 圭志	筑波大学・生命環境系・准教授	1

A03-1 公	21H05743 (第1期) 精子クロマチンの物性変化や核形態変化へのアクロソームと核膜孔の役割の解明	令和3年度 ～ 令和4年度	荒川 聡子	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授	1
A03-1 公	23H04292 (第2期) 精子形成を司る多能的クロマチン制御	令和5年度 ～ 令和6年度	前澤 創	東京理科大学・理工学部応用生物科学科・准教授	1
A03-2 公	21H05742 (第1期) DNA ループ形成動態のモダリティ	令和3年度 ～ 令和4年度	深谷 雄志	東京大学・定量生命科学研究所・准教授	1
A03-2 公	23H04276 (第2期) ゲノム構造と転写のクロストークを生み出す動的制御基盤の解明	令和5年度 ～ 令和6年度	深谷 雄志	東京大学・定量生命科学研究所・准教授	1
A03-2 公	21H05753 (第1期) 不活性化X染色体の決定におけるゲノムモダリティ制御要因の解明	令和3年度 ～ 令和4年度	落合 博	広島大学・統合生命科学研究所・講師	1
A03-2 公	23H04286 (第2期) 転写動態制御を担うゲノムモダリティ要因の理解	令和5年度 ～ 令和6年度	落合 博	九州大学・生体防御医学研究所・教授	1
A03-2 公	21H05755 (第1期) データ駆動的な位相図の再構成によるゲノム様式変化の理解	令和3年度 ～ 令和4年度	前原 一満	九州大学・生体防御医学研究所・助教	1
A03-2 公	23H04288 (第2期) データ駆動的な位相図再構成から読み解くゲノム様式変化	令和5年度 ～ 令和6年度	前原 一満	九州大学・生体防御医学研究所・助教	1
公募研究 計 33 件 (廃止を含む)					

[1] 公：公募研究

[2] 公募研究は研究代表者が1名で実施

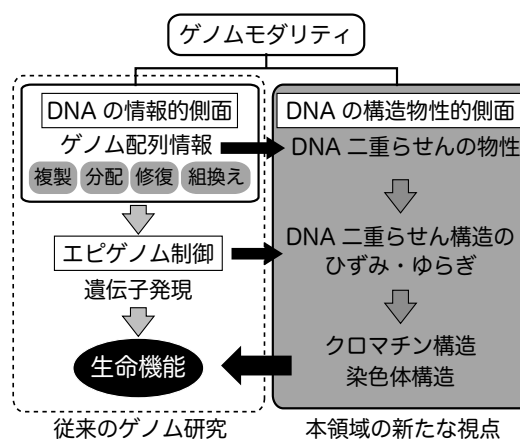
## 研究領域全体に係る事項

### 4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる」ものであるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

#### 【本研究領域の研究目的】

DNA 二重らせんの提唱に始まり、ゲノム配列の解読、そしてゲノム編集技術の普及に至る現代のゲノム研究の潮流は、塩基配列情報の複製・分配・修復・組換えのしくみや、ヒストン修飾を中心としたエピゲノム制御を軸に、ゲノムの情動的側面の制御をハイライトする形で展開されてきた。一方で、DNA のポリマーとしての物理的性質は、ゲノム上で引き起こされるあらゆる現象の基盤となる重要な特性であるにもかかわらず、その理解はほとんど進んでいない。本領域では、DNA の構造物的側面と情動的側面との密接な関係性を明らかにすることを通して、ゲノム機能の深い理解を目指す。本領域では、これらの塩基配列情報・DNA 物性・その他の環境諸因子により多元的に制御されるゲノムの構造や機能の様式を「ゲノムモダリティ (Genome modality)」と定義し、従来の情動的側面に偏りすぎたゲノム研究の方向性を再構築する (図 1)。



#### 【研究の学術的背景】

ワトソン・クリックの DNA 二重らせん構造の提唱に始まる従来のゲノム研究は、塩基配列を基盤としたゲノム制御と、非塩基配列情報を基盤としたエピゲノム制御という二つの強力な概念を軸に、ヌクレオソーム構造を基本としたゲノムの構造と機能の実体を明らかにしてきた。こうした従来のゲノム研究の潮流に、近年、全く新しいゲノム構造構築の概念が加わろうとしている。その代表例の1つが「ループ押し出し (loop extrusion)」機構による DNA ループの形成である。Hi-C をはじめとした新規ゲノム構造解析技術の急速な普及を背景に、間期クロマチンと分裂期染色体における数十 kb から Mb 規模のループ様ドメイン構造の存在が明らかされ、これらの構造の形成にコヒーシオンとコンデンシンと呼ばれるタンパク質複合体が本質的な役割を果たすことが分かってきた。このループ押し出しという新規の活性は、一見シンプルな現象のように感じられるが、実際のナノスケールにおける二本鎖 DNA は、比較的硬い分子であり、DNA を押し出してループを形成することは物理的には容易ではなく、ループ押し出しの分子メカニズムは、未だに想像の域を出ていない。

DNA 物性の重要性はナノスケールにとどまらない。たとえば精子核内では、ゲノム DNA がプロタミンと呼ばれる塩基性タンパク質と結合して高度に凝縮しているが、その折りたたみのメカニズムは全く理解されていない。また、ヌクレオソームのゲノム配列上でのポジショニングや巻き付きの度合い、リンカーの長さや硬さ、DNA・ヒストンの化学修飾や各種タンパク質因子の結合がどのようにその配列・配向と動態に関与し、転写等の分子反応の制御に関わっているかという問題についての理解も乏しい。

一方、DNA をポリマーとして扱う物性研究は、ゲノムの生物学とは独立に、高分子物理学分野で独自の発展をたどってきた。両分野が交わることがなかった一因として、これまでの生物学実験、とくに生理的な条件下で行われる観察系の解像度が、高分子物理学研究で扱うナノスケールの解像度に到達していなかったことが挙げられる。しかし近年、検出機器の解像度が飛躍的に向上し、低温電子顕微鏡法 (Cryo-EM)、原子間力顕微鏡法 (AFM)、超解像顕微鏡法、全反射顕微鏡法 (TIRFM) などを用いた、DNA やタ

ンパク質の単分子解析系が世界的に普及した結果、生体内単分子の挙動についての大量の情報が得られるようになってきた。また Hi-C およびシーケンス解析技術の向上により、ゲノムの折りたたみ構造が数百塩基対の分解能で明らかにされ始めている。これら近年の急速な技術的発展を背景に、これまで全く独立に発展を遂げてきたゲノム研究と高分子物理学研究の融合が現実可能となってきた。

【全体構想】

本領域では、高分子物理学分野の研究者と、ゲノム科学分野の研究者との共同研究基盤を構築し、DNA 物性の理解に基づくゲノムの機能原理の解明を目指した融合研究を強力に推進する。高分子物理学分野からは、理論物理学、計算物理学、数理物理学、ソフトマター物理学の専門家を、ゲノム科学分野からは、ヌクレオソームレベルのナノスケール、DNA ループ形成やクロマチンファイバーなどのメゾスケール、そして疾患と関連する染色体レベルのマクロスケールに至る、ゲノムの有する幅広い階層性をカバーする研究者を集めた。本領域ではゲノム構造の各階層に応じて三つの研究項目（A01、A02、A03）を設け、それらの異なるスケールを理論的につなぐ役割を A01-1 理論物理班が担う。さらに本領域で得られる理論的、実験的知見を、ひとつのデータベース上に集約することで、ゲノム物性情報、周辺環境情報、分子活性情報、ゲノム高次構造情報、病理学情報から疾患原理を予測できる「ゲノムモダリティ・スイート」の構築を目指す。

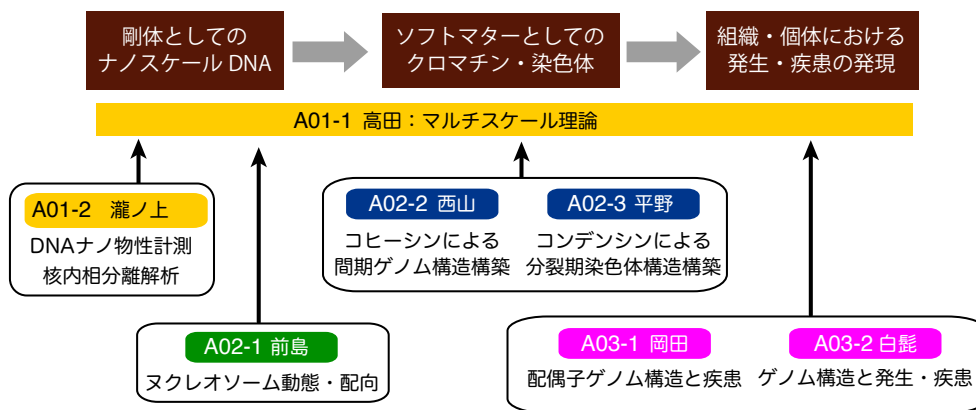


図2 本領域の全体構想

【学術体系や方向を変革・転換させる点】

本研究領域が変革的である最大の特徴は、DNA の構造物性的側面からゲノムを理解しようとする戦略にある。従来の学術体系では、DNA の情動的側面のみが過度に重視され、DNA を「4 種の塩基配列で記された一次情報」として位置づけていた。そしてこの塩基配列情報を基盤としたゲノム制御と、DNA 修飾やヒストン修飾を基盤としたエピゲノム制御に重点をおいて、生命機能の理解が進められてきた。しかしながら、これらの研究には、DNA の構造物性（ポリマーとしての物理的性質）の視点が決定的に欠落していた。本領域ではこの視点に着目し、生物学者と物理学者による密接な議論を通して、DNA の構造物性的側面を深く理解することで、ゲノムの生物学とゲノムの物理学が融合した真に新しい学術体系を生み出すことを目指す。

【期待される成果】

第一に、本研究領域が掲げるゲノム研究と高分子物理学研究との融合により、新分野の創出が期待できる。第二に、新しいゲノム制御の概念を打ち出すことができる。従来のゲノム制御研究において中心的地位を確立しているヒストンやクロマチンリモデリング因子、エピジェネティクス制御因子に加え、本研究領域により DNA の物性を制御する因子を明らかにすることで、DNA 物性を基盤としたゲノム制御の概念を新たに打ち出すことができると期待される。第三に、ゲノムモダリティ制御因子を集約したプラットフォーム「ゲノムモダリティ・スイート」の構築により、ゲノム制御動態の可視化や予測を可能にするオープンツールを開発し、将来的には疾患原因予測ツールとして実社会への還元が期待される。



## 5 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

審査結果の所見において、① 挑戦的な構想であり、GM Suite のプラットフォーム作成も含め、5年間でどこまで進められるか、② 「GM Suite」がどのように統合され、使われていくのかの方向性を明確に、③ 公募研究により不足している研究内容を補うのが望ましい、といった指摘を受けた。ここでは GM Suite の開発状況 (①②) と公募研究への対応状況 (③) について記載する。

### 【GM Suite の開発状況】

ゲノムモダリティスイート (GM Suite) (限定公開サイト: <https://gmsuite.hgc.jp/>) は、本研究領域に関わる各種データおよびアプリケーションを集約し、これらの有機的な相互関連付けと融合による新しい価値創出を目的とするウェブベースの計算プラットフォームである。領域研究開始以来、GM Suite の開発・公開を段階的に着手し、① 領域内利用で各班の研究を加速させる、② 公開可能なデータおよびアプリケーション等を順次一般公開する、という手順で、班員の実験データを用いたシステムデザインと試験運用を重ね、現在、初版のシステムを本格稼働している (図3)。

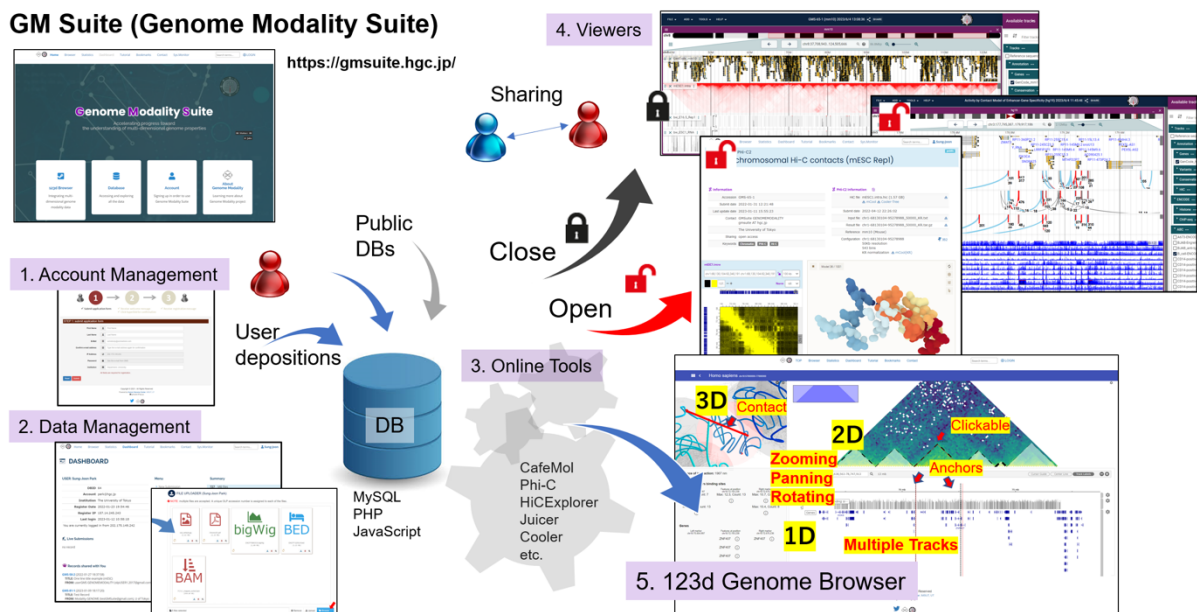


図3 GM Suite (Genome Modality Suite) システムの概略図

現在稼働中の GM Suite では、独自に開発した GUI により、ユーザー自身によるデータ操作・解析を可能にしておき、ゲノムブラウザなどの各種組み込みツールを用いることで、より包括的な解釈と情報共有をシームレスに行うことができるようにしている (紹介動画: [GMS-64-3](#))。さらに、研究領域内からの要望により、例えば以下に示すように、各種細胞におけるエンハンサー制御情報 ([GMS-65-4](#))、染色体の網羅的 3D ゲノムモデルの一般公開 ([GMS-65-1](#))、A03-2 (白髭班) によるコヒーシオン関連の各種 NGS データと解析結果の一般公開 ([GMS-65-2](#)、[GMS-65-3](#)) など、各種データベースの構築を進めている。これにより、多岐にわたるゲノムモダリティ因子同士の階層性や相互関係を明確化し、より使いやすいシステムへ、改善と更新を繰り返し行っている。以下でそれぞれの具体的な進捗状況を記載する。

#### 1) 各種細胞におけるエンハンサー制御情報

ENCODE プロジェクトが提供している各種 ChIP-seq データ、EPI (Enhancer Promoter Interaction) データ、cCRE (Candidate Cis-Regulatory Element) データなどを GM Suite のゲノムブラウザで動作するようにまとめた。さらに、ABC モデル (Fulco et al., Nat Genet. 2019) による 131 ヒト細胞の EPI 予測データも組み込み、ユーザーが自身のデータと重ね合わせながら様々な操作ができるよう工夫した。

## 2) 染色体の網羅的 3D ゲノムモデル

マウス ES 細胞の公共 Hi-C データを独自に解析した後、その結果を GM Suite にアップロードし、新海班（公募班）が開発した PHiC2 を GUI 経由で実行した。ここでは、250kb の解像度で各染色体の head-to-tail モデリングと、25kb 解像度で各染色体の 10Mb 領域を 1Mb ずつ移動しながら 3D 構造モデリングを行った。例えば、ヒト 1 番染色体では 192 個のモデル、8 番染色体では 123 個のモデルを構築した（図 4）。現在、この過程で、コンタクト情報の抜け落ち部位の扱い方や各モデル群の結合と可視化方法などの課題解決に取り組んでいる。

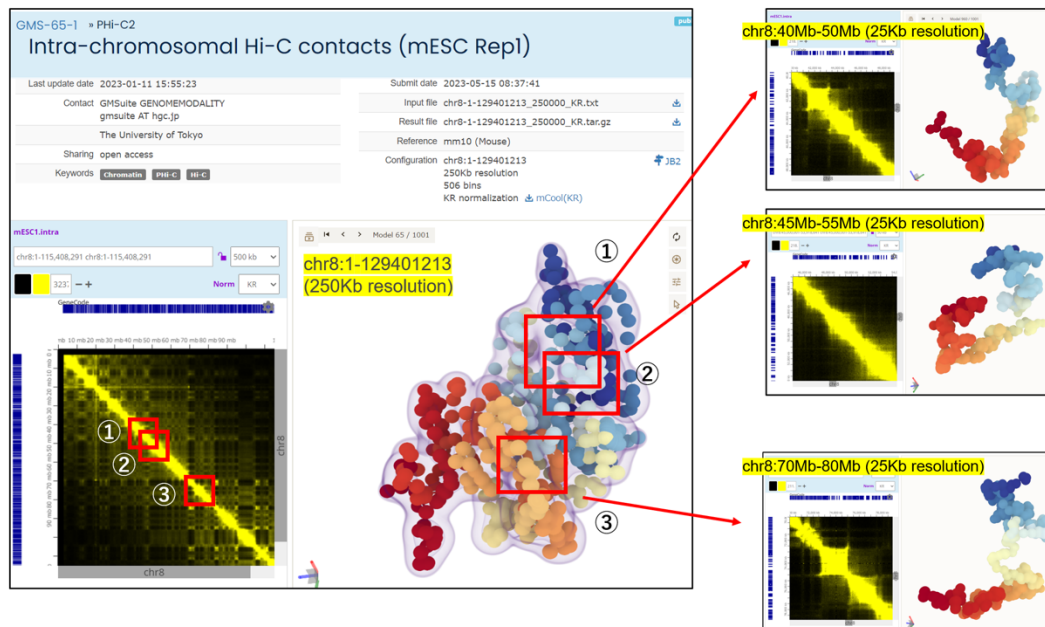


図 4 PHiC2 による全染色体の 3D モデリングの例

## 3) コヒーシオン関連の各種 NGS データに解析結果

A03-2（白髭班）が取得した RAD21 に対するオーキシンドグロン実験下での各種 ChIP-seq、新生 RNA のピーク情報（PRO-seq, EU-seq）、Hi-C と Micro-C データを公共データ（Rao et al, Cell 2017）と合わせて解析中であり、終了した部分については順次一般公開している。特に、Micro-C によるコンタクト情報は約 1kb の超高解像度 3D クロマチンモデリングを可能にするが、サンプル 1 個につき 500G バイト以上の FASTQ ファイルがあるなど、情報解析の挑戦的側面が強く、解決を急いでいる。

今後、これまでに構築してきたデータの集約、利用、および公開を加速化させるとともに、個別事例の拡大とシステムのブラッシュアップを継続していく計画である。また、現在開発中の DNA 修飾データ（1D）、コンタクトデータ（2D）、ゲノム三次元立体構造（3D）を単一ウェブページでインタラクティブに操作できる「123d Genome Browser」の完成を目指す（プロトタイプ：[GMS-64-3](#)）。一方、ゲノム配列データ、画像データ、各種合成 DNA 実験データなど、互いに異質なマルチスケールデータを効果的に統合する面に関しては補完すべき点が多い。ユーザーフレンドリーなポータルサイトをデザインするなど、研究期間の終盤にむけてゲノムモデリティ因子の多面的な相互関連付けを実現し、広く公開していきたい。

### 【公募研究への対応状況】

第一期公募班では、DNA やヌクレオソームの分子構造から、染色体構造、転写動態、核内構造を扱う研究計画、さらに核様体や古細菌といった非モデル系染色体構造を扱う研究計画を採用でき、計画研究で不足している研究内容を補完することができた。また、理論と GMS 関連では、分裂期および間期染色体のモデリングやデータサイエンス分野をカバーでき、特に新海班は GMS 構築に大きく貢献する成果を出した。第二期公募でも公募班がカバーする分野の基本的な枠組みは維持しているが、核質の物性や DNA 複製、また細胞分化と DNA 物性の関連を明らかにする研究計画を採用でき、第一期にはなかった分野も補完できている。

## 6 研究の進展状況及び主な成果

(1) 及び (2) について、計画研究及びそれと連携している公募研究ごとに、具体的かつ簡潔に記述すること。  
(一つの計画研究及び連携する公募研究で2頁以内)

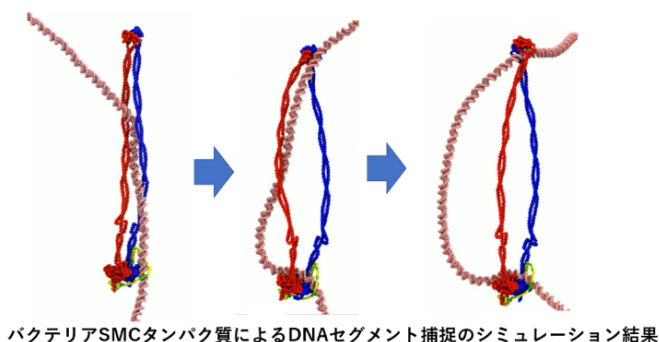
(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか

(2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果について、(計画研究・連携する公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。)

### A01-1 ゲノムモダリティのマルチスケール理論 (計画代表：高田、分担：剣持、石本、山本)

#### 【目標】

「ゲノムモダリティ」領域内で唯一の理論研究である本計画研究は、領域の実験研究者との共同研究を通じて、計測データを物理モデルで説明することによって生物学的知見を深化させる。まず物理基盤として、DNA からヌクレオソーム、クロマチン、染色体に至るゲノムの階層構造をマルチスケールな物理理論・シミュレーション研究によって明らかにする。また、間期および分裂期の染色体構造はいかにして形成されるのかを SMC タンパク質 (コヒーシン・コンデンシン) の DNA ループ押し機能を中心に、構造シミュレーションと物理モデルによって解明する。また領域研究の連携を円滑に進めるため、実験班の成果を集約して、統合ツール「ゲノムモダリティ・スイート」の構築に貢献する。



細菌 SMC タンパク質による DNA セグメント捕捉のシミュレーション結果

#### 【成果】

当初計画した 4 つの課題について研究が進捗している。

(1) 染色体マルチスケール理論の基盤として、従来の近原子分解能モデルの改良に加えて、a) メゾスケール高分子モデルの構築、及び b) 階層間の接続法の開発に成功した。a) ヌクレオソームを球、リンカー DNA を非線形バネとした高分子モデルをもとにブラウン運動を考察し、混雑した細胞核内で重要なヌクレオソーム間衝突時の跳ね返りを含むブラウン動力学アルゴリズムを考案・実装した。b) メゾスケールモデルの構造と整合する近原子分解能モデル構造を、原子同士の重なり・DNA の結び目を回避しながらほぼ自動的に構築する方法を開発した。

(2) SMC タンパク質の DNA ループ押し時の分子機構を解明するために、近原子分解能分子シミュレーションによって、細菌 SMC 蛋白質およびコヒーシンの計算研究を推進した。細菌 ScpA-SMC 蛋白質の ATP 型、ADP 型、Apo 型各々の全長構造モデルを構築し、各々の DNA 結合様式、ATP 加水分解依存的な構造変化サイクルを明らかにした。特に ATP 型 SMC において、DNA セグメントを捕捉する様子を可視化した (上図)。また SMC 頭部への DNA 結合が、SMC の ATP 加水分解を促進する機構を分析した。また、コヒーシンについても構造解析を行った (A02-2 西山班との共同研究)。

(3) コヒーシンのループ押し運動と転写因子/RNA 合成酵素による遺伝子とエンハンサの転写凝集体への結合・解離ダイナミクスを考慮に入れて、転写凝集体表面のクロマチンの運動と転写ダイナミクスの解析を行った。遺伝子-エンハンサ間の DNA の長さを長くすると緩和時間が長くなるため、次のループ押しが始まるまで遺伝子が凝集体表面付近に留まるので、遺伝子の凝集体内の転写装置へのアクセス率が高くなることが分かった。ゲノム DNA 高次構造転移が示す不連続性が引き起こす遺伝子発現 ON/OFF スwitching 機構メカニズムを研究した。1 価陽イオン (Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup>, Cs<sup>+</sup>, (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>N<sup>+</sup>) による遺伝子発現活性に対する寄与を無細胞系発現実験によって定量的に評価し、Rb<sup>+</sup> が最も強く遺伝子発現活性を促進することを見出し、イオン半径および水和エネルギーに関して最適値が存在することを明らかにした。

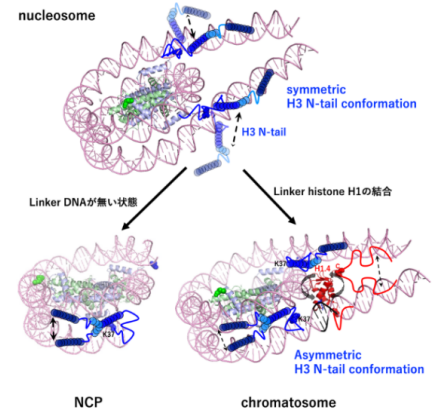


(4) 分裂期染色体の形成に必要な DNA 物性を明らかにするために、DNA の絡み合いを解消する活性を持つ因子である topo II を減少させたときの染色体構造形成のモデルを構築した。ヒストン H1 による DNA 間相互作用によって、DNA が膨潤した状態と収縮した状態が双安定になる。コンデンシンによるループ押し出しによって DNA が硬くなり、収縮した状態が安定になることを理論的に示した。

以上のように、4 課題全体にわたり中間評価時までの計画をおおむね順調に実現した。

**(公募・古川) ヌクレオソーム DNA とヒストンテイル間の動的な相互作用解析**

ヌクレオソーム DNA とヒストンテイル間の動的相互作用を解析し、ヌクレオソームのリンカー DNA がヒストン H3 の N 末テイルと非常に弱く相互作用していて、その DNA との相互作用は残基によって異なることが明らかになった。また、リンカー DNA の有無やリンカーヒストン H1 の有無によって、ヌクレオソーム中のヒストン H3 の N 末テイルの動的な構造が変化し (右図)、H3 の 14 番目のリジンのアセチル化反応が大きく異なった。

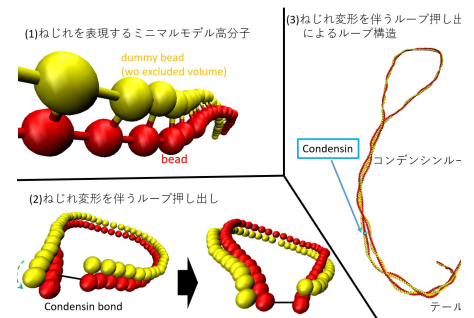


**(公募・菅瀬) NMRによる二本鎖DNAの局所的な構造ゆらぎの研究**

メチル化状態に依存した二本鎖 DNA の局所的な構造ゆらぎを定量化することを旨とし、メチル化状態の異なる二本鎖 DNA が核内模倣環境で示す局所的な運動性を NMR により解析した。4 つの異なるメチル化二本鎖 DNA 各々を、核内を模倣する PEG200 ありとなしの条件で、計 8 サンプル解析した。塩基対の開閉運動の速度を解析できる <sup>1</sup>H イミノプロトン緩和分散測定と水とイミノプロトンの交換速度を解析できる CLEANEX-PM 測定を行った。<sup>1</sup>H イミノプロトン緩和分散データから、メチル化状態の違いでは二本鎖 DNA の運動性はあまり変化がないが、PEG200 の有無で大きな運動性の変化を見出した (公募班・古川との共同研究)。

**(公募・横田) 曲げとねじれのモードカップリングを通して分裂期染色体の凝縮を理解する**

DNA やクロマチンの“ねじれ”がクロマチン凝縮に及ぼす寄与を、力学モデルを用いて明らかにするため、シミュレーションにより、“ねじれ”が DNA ループ形成に及ぼす影響を明らかにした。twist と writhe (超らせん) を取り入れたモデル高分子 (右図 1) を構築し、コンデンシンによる片側ループ押し出しとねじれ変形を取り入れたシミュレーション (右図 2) を行い、コンデンシンが根元に局在したループの外側にねじれ変形が伝搬することが明らかとなった (A02-3 平野班との共同研究)。また、葉緑体内の核様体の生成・分散ダイナミクスにおいては、超らせん生成とその分散が重要である。シミュレーションを用いて、twist 変形とそれに続いて一本鎖切断を課し、twist と writhe の巻き数の経時変化を計算したところ、両者の和、つまりリンキング数の保存の有無が動力学を変化させることが明らかとなった (公募班・西村との共同研究)。



- (1) ダミー粒子で鎖の軸まわりのねじれ (twist) をも表現するモデル高分子
- (2) ねじれ変形を伴うループ押し出し
- (3) それによるループ構造

**(公募・坂上) DNAメカニクスのマルチスケールモデル**

DNA のメソスケール高分子としての振舞いと、マイクロな塩基対スケールで見られる特徴的な力学物性との定量的関係性を明らかにするため、DNA の標準的なマイクロモデルとして知られる「剛体塩基対モデル」を系統的に粗視化する理論的手法を定式化し、メソスケールの「みみず鎖モデル」の持続長を導出することに成功した。また、DNA 二重らせんの力学特性は長さ依存性を持ち、10 bp 以下のスケールでは、持続長から想定される力学特性よりも柔らかく振舞うことを明らかにした。

**【目標】**

本研究計画は、DNA ナノ構造の集合体である DNA 液滴や膜小胞を用いた細胞核モデルを構築し、それらが示す相分離物性や機能発現制御の物理メカニズムとゲノムモダリティ制御因子の物性への影響を解析することで、ソフトマターとしてのメゾ〜マイクロスケール (細胞核スケール) の DNA の構造物性や制御原理をナノスケールから解明することを目指す (下図 A)。

(目標 1) ゲノム DNA/細胞核モデルの構築と DNA 物性の解明および設計理論構築

近年、クロマチンが凝集したゲノムの構造は流動的な液滴状態 (液-液相分離液滴) と考えられている。

**中間評価まで:** 人工的な Y 字型や X 字型などの単純な分岐形状の DNA ナノ構造の自己集合で作られる、メゾスケールの流動性のある「DNA 液滴」を用いて、DNA 物性とナノスケールの塩基配列情報との関係を、実験および数理モデルの両面での理解を目指している。いずれも **計画通り** 進んでいる。

**領域終了まで:** 上記を発展させた、よりクロマチン構造に近い構造やゲノムモダリティ制御因子を導入した現実に近いモデルによる DNA の構造物性や制御原理を目標として進めている。

(目標 2) 物理・化学的なゲノム DNA モデルの制御技術の開発に基づく、物性と機能制御の相関の解明

**中間評価まで:** ゲノム DNA モデルや細胞核モデルを制御する物理的・化学的手法を開発し、メゾスケールの環境応答による物性を調べることを目標とし、**計画通り** 進んでいる。

**領域終了まで:** 化学反応や環境刺激に駆動される機能発現と、DNA ナノ構造〜メゾ物性の関係を探求する。これにより、化学エネルギーを用いた非平衡状況でのゲノム動態のモデルの構築を目指す。

(目標 3) 核内環境を模した分子混雑系でのゲノム DNA モデルの構築と DNA 物性の定量解析

**中間評価まで:** リボソームやマイクロ流体デバイスを用いて、核内の分子混雑効果を定量的に理解するための細胞核再構成系を構築することを目指し、**計画通り** 分子混雑系での DNA 実験に成功している。

**領域終了まで:** 目標 1・2 と合わせ、核内環境でのゲノム DNA の構造や機能や動態の解明を目指す。

**【成果】**

(目標 1) 中間評価までに DNA が示すナノ物性とメゾ・マクロ物性の関連を見出すことを計画した。代表者・瀧ノ上は、計画通り、分岐ナノ構造の分岐末端にある粘着末端の長さや塩基配列を設計し、**系統的に会合安定性の熱力学パラメータ ( $\Delta G$ ) を変え、液滴融合ダイナミクスへの影響を定量的に計測**することで、DNA 液滴の表面張力と粘性を定量的に解析した (*Nanoscale Adv.* 2023, *内表紙掲載*)。DNA 液滴の相転移温度付近で、粘着末端の安定性が DNA 液滴の粘性ではなく表面張力に大きく影響することが分かった (下図 B)。DNA 液滴や一般の相分離液滴の物性と分子設計の関係の理解を加速すると考えられる。さらに、DNA 液滴の物性を理論的に予測するための数理モデルの構築に関しては、DNA ナノ構造を Brown 運動する結合性のある粒子として粗視化した Brown 動力学モデルを利用し、DNA 液滴の形成や分裂等のダイナミクスのシミュレーションに成功している (論文執筆中)。また、クロマチンのシミュレーション手法も取り入れてモデルの改良も行っている (下図 C) (A01-1 石本との共同研究)。油中水滴界面を核膜などのマイクロ界面のモデル系として使い、バルク水溶液中では互いに融合しない塩基配列を持つ DNA 液滴同士が膜界面上では網目-水玉模様のパターンを自発形成するなど、界面によって DNA のマイクロ構造形成物性が大きく変化することを見出した (*JACS Au* 2021, *表紙掲載*) (下図 D)。核膜内膜にテザリングされたクロマチンの構造形成を DNA 物性の観点から理解する端緒になる。

(目標 2) 目標 1 のゲノム DNA モデルや細胞核モデルを制御する物理的・化学的手法を開発し、細胞/細胞核スケールでの環境応答による物性を調べることを目指した。中間評価までに、DNA ナノ構造の各分岐にある粘着末端に光応答で cis-trans 転移するアゾベンゼン基を導入し、光で DNA 液滴の安定性を変える技術の確立を目指した。この成果として、アゾベンゼン基の位置によって DNA 液滴のゲル化や溶解などの相変化の光応答が変化することを見出し、**光による液-液相分離液滴の流動制御技術・分子輸送技術が実現**できた (論文リバイズ中)。細胞や核に応用できる可能性もある。

ゲノム DNA モデルと生化学反応のカップリングによるダイナミクスの制御を目指し、生化学反応によって DNA 液滴の分裂現象のタイミングや順序を時間的に制御した (論文執筆中)。この技術は、DNA 液滴による microRNA センシング (*Adv. Funct. Mater.* 2022, *表紙掲載*) を応用している。

(目標 3) 核内環境を模した分子混雑系でのゲノム DNA モデルの構築を目指し、リポソーム内に内包した DNA 液滴を塩濃度や浸透圧などでコントロールする新規手法の開発に成功した(国際会議発表)(下図 E) (A01-2 鈴木との共同研究)。メゾサイズの DNA ナノ構造が、PEG/dextran で構築した液-液相分離液滴(ポリマーによる分子混雑環境)の dextran 相に特異的に分配され、排除体積効果によって、液滴界面に自己集積することを見出した(*ChemBioChem* 2022, 表紙掲載)。また、PEG/dextran 液滴中での均一サイズの DNA 液滴の新たな形成メカニズムについても発見した(*Front. Genet.* 2021) (A01-1 吉川との共同研究)。

**(公募・西村) 細胞周期が司る葉緑体核様体の固体-液体相転移の分子機構を探る**

植物の葉緑体においても(目標 2)に関係する生化学反応等と DNA の液滴状態とのカップリングおよび機能発現の制御に関する研究が進展した。西村はこれまでに、葉緑体核様体が、間期は膜にアンカーされ流動性が低い、葉緑体分裂に先立って流動化、分裂完了後に低流動性の状態に戻るという現象を見出している。第 1 期の公募研究期間内に、計画通り、DNA supercoil 構造の可視化技術の開発により、細胞周期と同調した葉緑体核様体の流動性制御が、葉緑体核様体の遺伝の保障に重要であるという、DNA のメゾ物性と生化学反応のカップリングに関して、生物学的に重要な知見を得ている(下図 F)。

**(公募・WONG) 核膜孔テリトリーにおけるゲノムモダリティ**

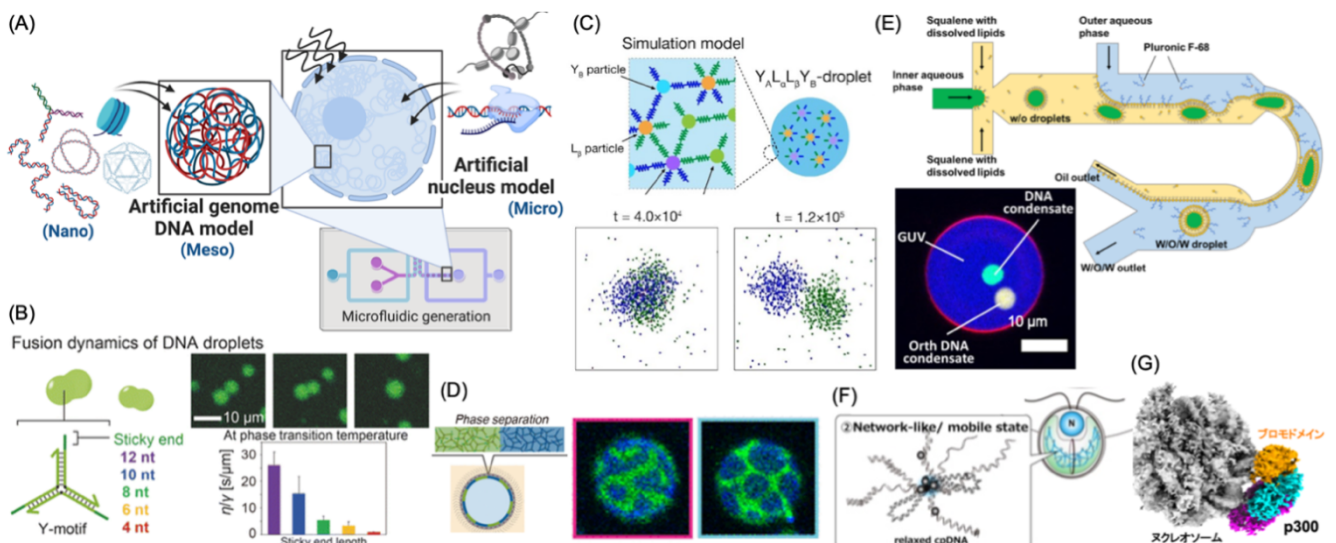
高速 AFM 技術をベースとし、ヌクレオソームを構成するヒストン H2A が DNA との相互作用により、物理的に DNA の屈性を制御することを解明し、ヒストンが DNA に巻き付き離れるダイナミクスを初めて明らかにした(*J. Phys. Chem. Lett.* 2021)。また、相分離を可視化できる蛍光プローブ(Pyr-A)の開発にも成功し(*iScience* 2021)、当研究計画の目標達成に貢献した。

また、DNA オリガミナノ構造の高速 AFM 可視化と膜相互作用についても研究を進めた(A01-2 瀧ノ上 班との共同研究)。

**(公募・梅原) エピゲノムの修飾密度と分子内相互作用による転写バースト形成の再構成的理解**

本研究では、転写バーストやスーパーエンハンサーに代表される転写スイッチ機構の試験管内再構成を通して、転写制御の分子機構の一端を理解することを目指した。結果として、ヒストンアセチル化酵素 p300 はヒストン H4 の N 末端テイルがアセチル化された状態を「読み」、同じヌクレオソームに存在するヒストン H2B やヒストン H3 の N 末端テイルにアセチル化を「書く」ことを示唆する構造を解明した(下図 G)。この仕組みはあらゆるゲノム DNA 配列のヌクレオソームに対してアセチル化を「読み書き」する普遍的な分子機構と考えられる。

また、ゲノム DNA モデルの DNA 液滴へのヌクレオソーム導入と相転移のアセチル化による制御に関する実験系の構築を進めた(A01-2 瀧ノ上 班との共同研究)。





【目標】

本計画研究では、1分子蛍光イメージング (前島・日比野)、高速 AFM・DNA 配列結合ピロール-イミダゾールポリアミド PIP (杉山)、ゲノム Hi-CO 解析 (谷口) を用いて、ゲノムの構造単位であるヌクレオソームレベルでのクロマチン構造と動態の観点から、ゲノムモダリティを理解することを目的としている (図 A)。領域内研究を通して、関連タンパク質の機能阻害や疾患変異が、間期クロマチンと分裂期染色体の organization (組織化) や動態に与える影響を調べ、細胞機能制御機構やこれらの破綻による疾患の発症機構の理解、さらにはゲノムモダリティ・スイート (GMS) 構築に貢献する。当初、計画研究では準備段階として、1分子顕微鏡光学系を改良して、細胞内で発現させた蛍光標識ヒストン H2B-HaloTag (単一ヌクレオソーム) の運動を高感度で観察し、その後3つの目標に向けて研究をおこなう計画であった。

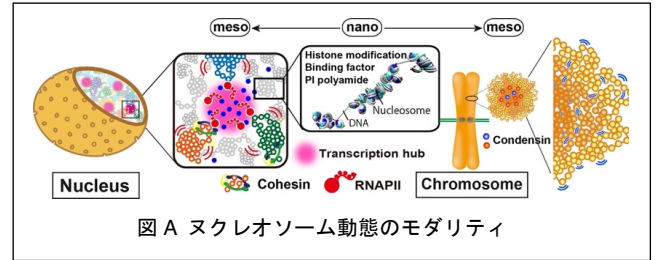


図 A ヌクレオソーム動態のモダリティ

(準備段階) 顕微鏡光学系改良、細胞周期各段階のヌクレオソーム運動を解析し、改良した技術を検証

- (目標 1) 細胞周期間期におけるクロマチンドメインの実体の解明
- (目標 2) ヌクレオソーム動態による分裂期染色体凝縮過程の解明
- (目標 3) クロマチン動態変化に基づく細胞状態の解析・細胞機能不全の理解への貢献

これまでに、準備段階の斜光照明顕微鏡の光学系の改良、細胞周期各段階のヌクレオソーム運動の解析は達成し、論文として報告した (Iida et al. *Science Adv.* 2022)。また目標 1 のクロマチンドメインの実体の解明も達成され、論文が出版された (Nozaki et al. *Science Adv.* 2023)。目標 2 の分裂期染色体凝縮過程の解明もほぼ達成され、論文投稿中である。現在、目標 3 の細胞状態の解析、機能不全理解への貢献に取り組んでいる。

【成果】

ヒト生細胞において、発現させた H2B-HaloTag を介してヌクレオソームを非常にまばらに蛍光ラベルし、斜光照明顕微鏡法で単一ヌクレオソームの動態を検出した。そして間期クロマチンの細胞周期におけるヌクレオソームの局所的なうごき (ゆらぎ) を観察した。間期では DNA の量は二倍になり、DNA を収納する核の大きさも二倍以上になる。これまで、このような核内の環境の変化は、クロマチンの動きに大きな影響を与えるとされてきた。しかし本研究によってヌクレオソームのゆらぎの程度は、DNA の量や核の大きさの変化に影響されず、間期でほぼ一定であることを示した (図 B, Iida et al. *Science Adv.* 2022)。ヌクレオソームのゆらぎの程度は、DNA へのアクセシビリティに直結する。間期でヌクレオソームのゆらぎの程度が一定に保たれることで、細胞は DNA に書かれた遺伝情報を、常に同じ環境で読み出し、RNA 転写や DNA 複製など、必要な仕事を同じように実行できると考えられた (Iida et al. *Science Adv.* 2022) (公募班・新海との共同研究)。次に目標 1 のユークロマチンドメインの実体に迫るため、2色の蛍光色素を用いてユークロマチン内の近接した2つのヌクレオソームの動きを同時に観察・比較したところ、150 nm 以内に近接した2つのヌクレオソームの動きに相関があることがわかった (公募班・新海との共同研究)。このことから、ユークロマチンが、平均直径 150 nm ほどの不規則に凝縮したクロマチンドメインを形成していることを示した (Nozaki et al. *Science Adv.* 2023)。さらに2点のヌクレオソームの MSD 解析により、ユークロマチンにおいてヌクレオソームはクロマチンドメインの内部で液体のように動いていることを示した。また、クロマチンドメインの数十倍程度より大きな染色体スケー

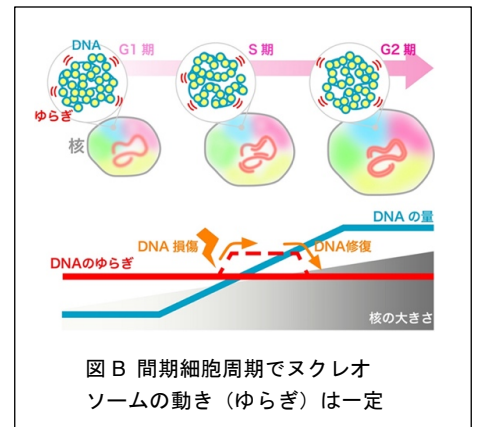


図 B 間期細胞周期でヌクレオソームの動き (ゆらぎ) は一定

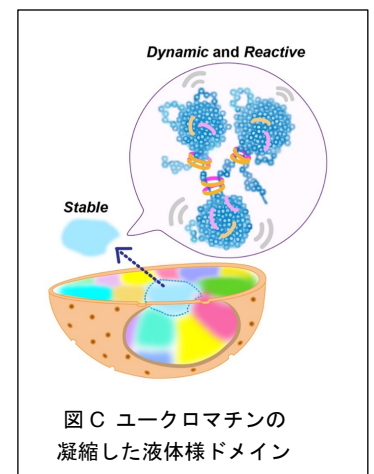


図 C ユークロマチンの凝縮した液体様ドメイン

ル（数マイクロン）のFRAP解析では、ユークロマチンは動かず、固体のように振る舞うこともわかった。つまり、ユークロマチンは局所的にはダイナミックで反応性に富み、染色体レベルでは安定である「粘弾性」の性質を持つことが明らかとなった（図 C, Nozaki et al. *Science Adv.* 2023）。

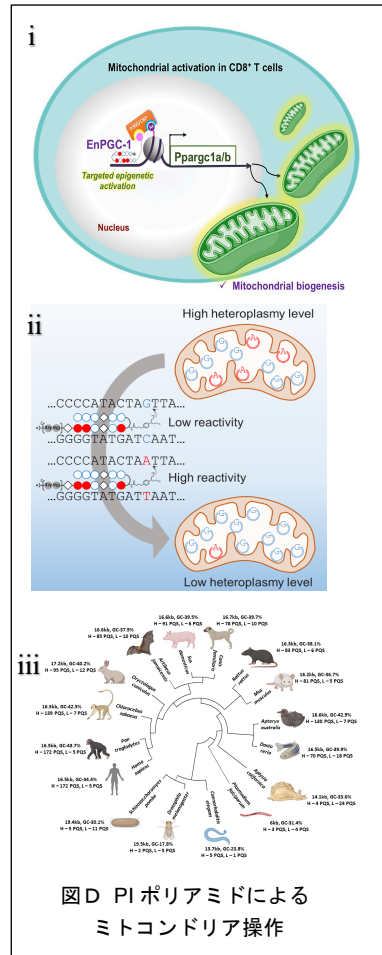
目標2の分裂期染色体のヌクレオソームの動態を計測したところ、染色体凝縮の進行に伴い、クロマチンへの物理的な束縛が増加し、染色体構造が安定化される様子を直接とらえることに成功した。次に、タンパク質迅速除去法（AID法）を組み合わせ、コンデンシンやコヒーシンなど、クロマチンの組織化に重要な因子を個別除去した状態で、ヌクレオソーム動態を調べた。その結果、間期クロマチンではコヒーシンが、また分裂期染色体ではコンデンシンがクロマチンを束縛し、局所ゆらぎを減少させ、クロマチンおよび染色体を組織化することが分かった（A02-1 日比野）。

DNA塩基配列特異的結合分子であるPIPを用いて、抗がん剤としての可能性を調べた。特に転写因子であるRUNX1~3を包括的に抑えたアルキル化ポリアミドは膠芽腫や髄芽腫などに効果があることがマウスを用いた実験で示された。またPIPを用いてミトコンドリアの活性化（図D-i, Malinee et al. *Cell Chemical Biology* 2021）、ミトコンドリアDNAの変異の回復について検討した（図D-ii, Hidaka et al., *Cell Chemical Biology* 2021）。またDNAオリガミ法を用いてクロロプラストのHBD1の結合を観察した。グアニン四重鎖（G4）は、四つのグアニン（G）がHoogsteen型水素結合をつくることにより形成される核酸の構造である。ヒトを含むさまざまな生物のゲノムDNAにG4が存在することが示されており、DNA G4やその転写産物であるRNA G4がさまざまな細胞機能において重要な役割を果たすことが提案されている。ミトコンドリアDNAにおいてG4形成モチーフの数が種の進化とともに増加していることを見出し（図D-iii）、ヘムの捕捉などの役割について考察した（Sahayasheela et al. *Trends Genet.* 2023）（A02-1 杉山）。

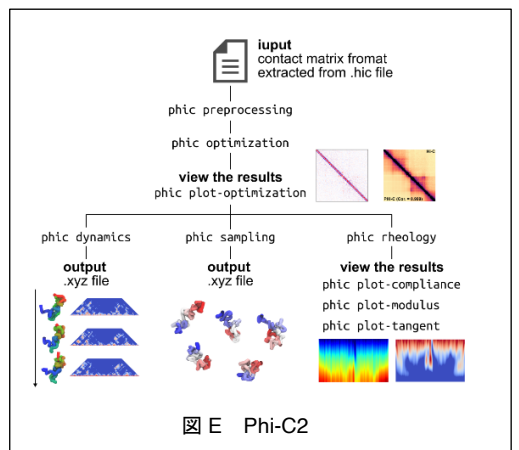
Hi-C法の解析対象を、従来の出芽酵母ゲノムからヒトゲノムを含む他のゲノムに拡張するための開発を行った。Hi-C法では、細胞内のゲノムの近接するヌクレオソーム間において連結を行った後、連結領域を含むDNA産物を回収して次世代シーケンサーで解析することで、近接したゲノム領域のペア情報を網羅的に取得する。谷口はゲノムサイズが250倍大きなヒトゲノムを解析することを目指して、各反応プロセスの最適化を進めると共に、DNA産物の回収効率を高めるための様々な検討を行った。特に、連結反応を行う前に行うゲノムの化学架橋の条件の検討を行った。これまで一般的な化学架橋剤である、DNA-DNAやDNA-タンパク質間を結合させるホルムアルデヒドを使用してきたが、タンパク質-タンパク質間を結合させる化学架橋剤など、複数の架橋剤について検討を行い、ヌクレオソーム間の結合効率を最適化した。検討の結果、ゲノム内の連結DNA産物を従来と比べて数倍の量を得ることができるようになり、実際に次世代シーケンサーHi-seqを用いてヒトゲノム内の連結情報をまばらながらも得ることができるようになった（A02-1 谷口）。

（公募・新海）流体力学的相互作用下における3次元ゲノム組織化のモダリティ

3次元ゲノム構造解析法であるHi-C法のデータから高分子モデルを構築するための理論と解析ソフトウェア「PHI-C（ファイシー）」を開発してきた。ソフトウェアとしてユーザビリティの向上のためコマンドラインインターフェースによる仕様設計に変更し、「PHI-C2」へのアップデートした（図E, Shinkai et al. *Bioinformatics* 2022）。PHI-C2はスパコンSHIROKANE上のGMSに実装された（A03-2 朴と連携）。



図D PIポリアミドによるミトコンドリア操作



図E Phi-C2



【目標】

本研究では、DNA とタンパク質の物性が作用するゲノムメソスケール構造形成の仕組みを明らかにするという領域目標のもと、SMC タンパク質複合体の一つであるコヒーシスが間期核内で DNA をコンパクトに束ねてメソスケールゲノム構造を作りあげる仕組みを明らかにすることを目指した。特に DNA の物性変化に着目し、剛直な dsDNA をループ状に変化させるメカニズムを明らかにし、この仕組みとコヒーシン病変異との関連性を検証することを目指し、以下の3つの目標を設定した。

- (目標1) コヒーシンによる DNA ループ形成のメカニズムを明らかにする
- (目標2) 接着機能と DNA ループ形成機能の違いを明らかにする
- (目標3) 発生時期に応じたクロマチン構造と物性の変化を明らかにする

【成果】

(目標1)

コヒーシスが DNA ループを形成するメカニズムを明らかにするため、コヒーシスタンパク質複合体の物性と構造の関係に着目した。コヒーシスはリング状のタンパク質複合体であり、そのヘッドドメインに ATP 加水分解活性を有する。ATP のヘッドドメインへの結合と解離は、リング構造の閉鎖と開放とそれぞれ連動しているため、ATP 加水分解によるヘッドドメインの開閉は、コヒーシン複合体の物性を制御する重要な活性である。

本研究ではヘッドドメインの開閉と DNA ループ押し出し活性の関係性を明らかにするため、ヘッドドメインを強制的に会合させることができる「ヘッド会合型コヒーシン」を作製した。このコヒーシスは、ラパマイシニアナログ存在下でヘッドドメインを会合させることができる。このヘッド会合型コヒーシンを用い、ラパマイシニアナログ存在下で DNA ループ押し出し活性を定量したところ、ヘッドドメインを会合した状態において DNA ループ形成活性が有意に減少することが明らかになった。このことは、ヘッドドメイン開閉によるコヒーシンリングの構造変化が DNA ループ形成に必要であることを示唆している (右図上)。

また、上記のヘッドドメイン会合を制御できるコヒーシンを発現したヒト HCT116 細胞を作製し、細胞内における影響を検証したところ、ヘッドドメイン解離によるコヒーシンリング構造の開放は、間期における DNA 複製の進行や (右図下)、遺伝子発現制御にも必要であることが明らかになった。つまり、コヒーシンのヘッドドメイン開閉による複合体物性の変化は、間期クロマチンにおける DNA ループ形成のみならず、遺伝子発現制御や、DNA 複製といった、ゲノム上の種々のイベントのタイムリーな進行を制御していることが明らかになった (A01-1 高田班との共同研究)。

また、コヒーシンと同じ SMC タンパク質複合体ファミリーの一つであるコンデンシンがどのように分裂期染色体の構造を構築するかを明らかにするため、コンデンシンと DNA の一分子解析を行い、種々のコンデンシン変異体における DNA ループ押し出し活性を検証し、コンデンシン I の HEAT リピートサブユニットが DNA ループ押し出しに必須であること (一方このループ押し出し活性と染色体凝縮活性は必ずしも一致しないこと)、また CAP-H サブユニットのアミノ末端を欠失した変異型 (H-dN) 複合体のループ押し出し活性が野生型に比べて上昇することを見出した。これについての詳細は A02-3 平野班の項に記載した (A02-3 平野班との共同研究)。

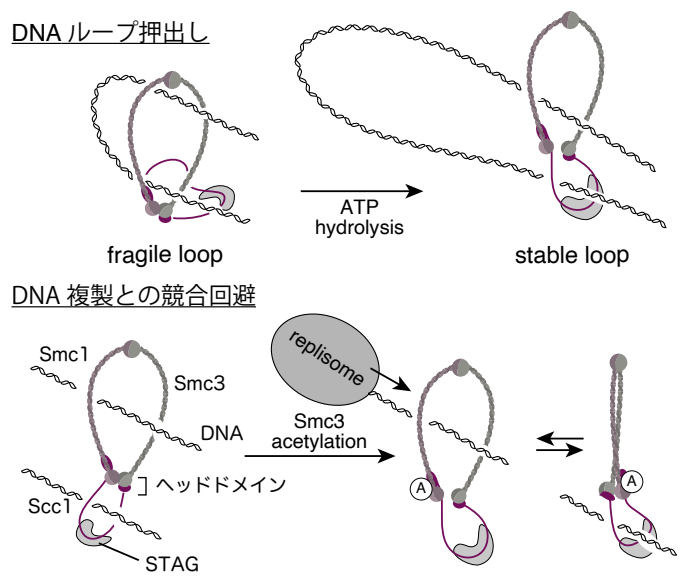
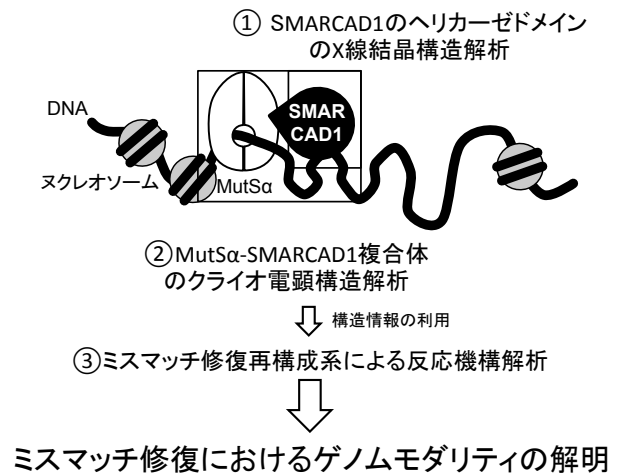


図 コヒーシン複合体の構造とメソスケール構造形成

## （公募・原（幸））ミスマッチ修復におけるゲノムモダリティの構造生物学的解明

本研究はゲノムメゾスケール構造形成の一翼を担う DNA 修復機構を構造生物学的アプローチから解明しようとするものである。本研究では、ミスマッチ塩基周辺のヌクレオソーム除去に関わる①SMARCAD1 のヘリカーゼドメインの X 線結晶構造解析、②MutSa ミスマッチセンサーとの複合体の調製とクライオ電顕構造解析、及びこれらの構造情報を利用した③ミスマッチ修復再構成系による反応機構解析を行うことで、ミスマッチ修復におけるヌクレオソーム動態の理解を目指した。

①のヘリカーゼドメインについては組換えタンパク質の結晶が得られているものの、構造解析に適した回折強度データ収集に至っていない。高分解能での構造解析を目指し、（活性部位の構造安定化に寄与すると考えられる）ATP の遷移アナログを利用した共結晶化を進める。また、AlphaFold2 やディスオーダー予測を利用して結晶化に適した新たな組換えタンパク質発現系を複数構築した。今後、これらの組換えタンパク質についても結晶化条件の探索を進め、SMARCAD1 による ATP 依存的なヌクレオソーム排除メカニズムを明らかにする。②については、SMARCAD1（全長）と MutSa の複合体の構造解析を目指し、MutSa の発現系を構築し、組換えタンパク質の過剰発現とアフィニティービーズへの良好な吸着を確認できた。今後、SMARCAD1（全長）との複合体の調製を目指す。SMARCAD1（全長）については既に調製に成功しており、MutSa との複合体の構造解析に向けて、プレリミナリーな実験ではあるがクライオ電顕測定を開始している。①、②の研究はまだ発展途上の段階にあるものの、組換えタンパク質の調製は構造解析を行う上で最重要課題である。本研究により構築したタンパク質大量調製システムを今後の研究の強みとし、構造解析に結びつける。また、構造情報を利用し、細胞機能に重要なアミノ酸残基を同定することで、機能を欠損させる変異体を設計し、③再構成系による反応機構解析（九州大学理学研究院 高橋達郎教授との共同研究）を結実させることで、ミスマッチ修復におけるゲノムモダリティの理解を目指す。高橋教授は新学術領域研究「多様かつ堅牢な細胞形質を支える非ゲノム情報複製機構」の公募班員であり、学術変革領域と新学術領域間の連携を進める成果となることが期待できる。



## A02-3 分裂期染色体のモダリティ (計画代表：平野)

### 【目標】

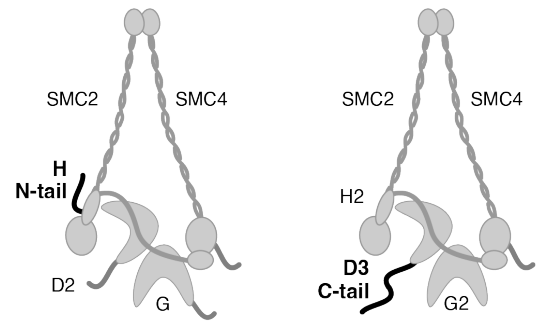
本研究では、DNA とタンパク質の物性の視点から、分裂期染色体構築におけるコンデンシン複合体の役割を明らかにすることを目指した。

### 【成果】

まず、染色体構築におけるループ押し出し活性の貢献を明らかにするために、コンデンシン I の野生型 (WT) および 2 つの異なるクラスの変異型 ( $\Delta G$  と H-III6Q 及び SMC4-W loop と D2-KG loop) 複合体についてループ押し出し活性を測定した結果、ループ押し出し活性の欠損だけではこれらの変異型複合体がカエル卵抽出液中で示す特徴的な染色体形成能を説明することはできないことが明らかとなった。また、コンデンシン I の CAP-H サブユニットのアミノ末端を欠失した変異型 (H-dN) 複合体についてループ押し出し活性を測定した結果、野生型複合体に比べてループ形成頻度が顕著に上昇することを見出した。この結果は、この変異型複合体がカエル卵抽出液中でより強い染色体構築能を有することをうまく説明した。さらに、コンデンシン I のループ押し出しアッセイにおいてトポイソメラーゼ II を共存させたときに起こる DNA トポロジー変化の解析を開始した。興味深いことに、トポイソメラーゼ II はコンデンシン I によって形成されるループに結び目 (knots) を導入し、よりコンパクトな構造に変換することを見出した (未発表、[A02-2 西山班との共同研究](#))。

次に、コンデンシン機能における HEAT リピートと天然変性領域の役割を明らかにするために、コンデンシン I の 3 つの制御サブユニット (CAP-D2, -G, -H) の天然変性領域を欠失させた変異型複合体、およびこの領域に存在する全てのセリンとスレオニン残基をアラニンに置換した変異型複合体を作製した。これらの機能解析から、CAP-H の N-tail がコンデンシン I の染色体結合に抑制的に働いていることがわかり、分裂期特異的なリン酸化がその抑制を解除するという制御メカニズムを提唱した。さらに、CAP-D2 サブユニットのカルボキシル末端天然変性領域 (C-tail) の欠失変異がコンデンシン I による染色体構築に大きな影響を与えないのに対して、CAP-D3 サブユニットの C-tail の欠失変異はコンデンシン II による染色体構築を顕著に促進させることを見出した。

トポイソメラーゼ II とヒストンシャペロン Asf1 を同時除去したカエル卵抽出液中で形成されるコンパクトなクロマチン構造 sparkler の形成機序の理論を構築した ([A01-1 山本との共同研究](#))。

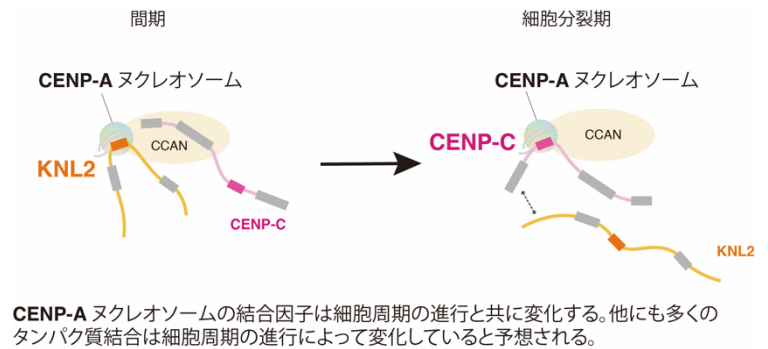


コンデンシン I (左) では CAP-H N-tail が、コンデンシン II (右) では CAP-D3 C-tail が、それぞれ負の制御領域として働く。

### (公募・深川) セントロメアモダリティの理解

動原体は、細胞分裂期に両極から伸びてきた紡錘体微小管と結合し、染色体分配において必須の働きを担う構造体である。動原体は、ゲノム上のセントロメアと呼ばれる領域に形成されるが、動原体が形成されるためには、セントロメア DNA が動原体タンパク質によって制御される独自の様式、すなわちセントロメアモダリティが必要である。セントロメアモダリティの理解のために、試験管内での動原体複合体を再構成することは非常に有効な方法であるが、単純な再構成と生化学的解析だけでは、不十分である。そこで本研究では、細胞内でおこる動原体複合体の構造変化を明確にし、その構造変化のメカニズムを構造生物学・生化学的に明らかにすることを目的とした。さらに、その変化の細胞内での意義についても明らかにすることを目指した。特に、2021-2022 年度の公募研究では、動原体を構成する CENP-A ヌクレオソームに結合する動原体タンパク質の変化に注目して研究を行った。CENP-A ヌクレオソームには CENP-C タンパク質が結合すると、これまで考えられてきたが、CENP-C がリン酸化される M 期でのみ CENP-A ヌクレオソームと CENP-C が結合し、間期では結合していないことが明らかになった。解析を続けた結果、KNL2 というタンパク質が、CENP-C に変わり、間期 CENP-A ヌクレオソームと結合するこ

とが明らかになり、その構造をクライオ EM で明らかにした。結合の詳細を明らかにし、この結合がなくなる変異体を作成した結果、CENP-A が不安定化して、染色体分配異常が起こることも明らかになった。さらに、M 期では、KNL2 が CENP-A から離れる構造変化も明らかになった。これらの結果から、動原体の構造変化の重要性の理解に向けて、順調に研究が進展していると言える。



### (公募・田中) 染色体分配に最適化した分裂期染色体の物性の解明

本研究では、分裂期染色体の物性に着目し、その形状や可塑性がどのように染色体分配に最適化されているのかについて研究を行なった。分裂期の染色体は、凝縮して個別化される一方、染色体分配の過程で大きく形を変えるが、その基盤となる物性や、染色体分配への寄与については不明な点が多い。本研究ではこの点を明らかにするために、特定の染色体の末端を可視化し、染色体の形状変化をリアルタイムで観察した。その結果、1番染色体短腕を可視化した正常ヒト網膜色素上皮細胞株RPE-1と、ラットカンガルー細胞PtK1において、キネトコアと微小管の結合状態の違いによって、染色体の可塑性に違いが見られることがわかった。また染色体の大きさの違いによる紡錘体上での動態を解析したところ、大きい染色体は高い確率で紡錘体の外側に留まるのに対して、小さい染色体は紡錘体の内側に入りやすい傾向が見られ、染色体の大きさによって紡錘体上での動態に違いが見られることが示唆された。

### (公募・木村) RNA/コンデンシン I の液・液相分離による分裂期染色体制御機構の解明

本研究では、コンデンシン I と相互作用して液・液相分離 (LLPS) を促進する非コード RNA を特定し、RNA とコンデンシン I との LLPS が分裂期染色体構築に寄与することの実証を目指した。

HeLa 細胞を LLPS の阻害剤 1,6-ヘキサンジオール (1,6-HD) 処理したところ、コンデンシン I が M 期染色体から解離した。1,6-HD には細胞内のクロマチンの動きを著しく抑制する効果も報告されているので、クロマチンの動きは抑制するが LLPS の阻害活性が低い 2,5-HD で HeLa 細胞を処理したところ、1,6-HD 添加の場合と比較して、コンデンシン I の分裂期染色体局在への影響は少なかった。この結果から、コンデンシン I の分裂期染色体局在に LLPS が関与することが強く示唆された。

現在までにコンデンシン I と相互作用し LLPS を促進する RNA の特定に至っていないが、一方で、研究代表者らはコンデンシンの相互作用因子を探索する過程で、コンデンシン II が hCAP-D3 サブユニットの C 末端側の 9 つの塩基性アミノ酸を介して、B55 を含む PP2A 三量体 (PP2A-B55) と結合することを見出した。さらに、この 9 つの塩基性アミノ酸をアラニンに置換した変異体 (9A 変異体) は、コンデンシン II は PP2A-B55 と結合せず M 期染色体骨格への局在も損なわれた。

### (公募・竹俣) 第三の生物ドメイン「アーキア」が持つ機能未知 SMC 様タンパク質の研究

本研究では、アーキアがもつ機能未知 SMC 様タンパク質 Arcadin-4 の機能解明を目指し、Arcadin-4 の AFM による単粒子解析および生化学解析、アーキアゲノムの三次元配置解析を行った。



**A03-1 配偶子のゲノムモダリティと疾患（計画代表：岡田、分担：元池）**

**【目標】**

当研究班では精子核 DNA の物性と精子核機能・受精・初期発生能との関連を明らかにすることを旨とし、次の3つの目標を掲げている。

- （目標 1）DNA 物性の観点から、精子クロマチンの局所構造を明らかにする
- （目標 2）精子核内染色体配置を明らかにし、動物間比較によりその生物学意義を探る
- （目標 3）DNA-プロタミン凝縮異常を定量化し、男性不妊症の理解に繋げる

**【成果】**

**目標 1-1** ナノスケール再構成として、DNA-プロタミン (PRM) 複合体形成の挙動と局所構造における多価カチオンの影響を、HS-AFM を用いて明らかにした(論文準備中) (公募班・Wong との共同研究)。また核内微小閉鎖環境を模倣する人工小胞内での DNA-PRM 凝縮再構成を試みた(A01-2 鈴木との共同研究)。これまでに小胞内に DNA-PRM 複合体を内包し、内部構造を共焦点顕微鏡で確認できた。今後小胞サイズや小胞内環境の変化が DNA-PRM 複合体に与える影響を検討する。

**目標 1-2** メゾスケール再構成として、マウス精子クロマチン構造における多価カチオン添加の影響を検討した (目標 1-1 と対応)。その結果、マグネシウムイオンと亜鉛イオンが精子クロマチン凝縮にそれぞれ負および正の効果をもつことを見出した (図 A)。これらの知見を利用し、精子のクロマチンを試験管内で任意に改変することを試みた。試験管内でセミインタクト精子を作製し、エピゲノム改変に必要なタンパク質や酵素を加えることで、精子のエピゲノム情報を改変することに成功した。さらにこの改変精子を顕微授精に供し、雄性前核形成異常を確認した (A01-1 剣持・石本との共同研究)。

**目標 2-1** ATAC-seq と ChIP-seq を土台とした解析で、ヒト精子とマウス精子のエピゲノム状態を検索した。興味深いことに両者の精子クロマチン開閉状態およびヒストン残存領域は類似していたことから、精子クロマチン構造のエッセンスはヒトとマウス間で保存されていることが示唆された (論文投稿準備中)。マウス精子については精巣から採取した 1 倍体精子細胞を、その分化段階に応じて FACS で高純度に分取する方法を確立した (図 B)。分取した各分化段階の精子細胞を ATAC-seq に供し精子細胞の分化段階特異的なクロマチンダイナミクスを示すことができた。今後 FISH 解析で、クロマチンの開閉と染色体核内配置との関連を検討する。

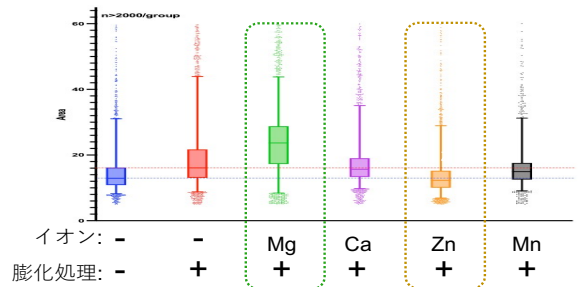


図 A. 精子クロマチン凝縮における 2 価陽イオンの影響の検討 膨化処理を施した精子に 4 種類の 2 価陽イオンを加え、精子核の面積を測定した。その結果 Mg イオンは膨化促進、Zn イオンは膨化抑制を示した。

**目標 2-2** 染色体テリトリー解析に有効な NGS 解析のひとつは核膜に結合したゲノム領域の同定である。特に精子形成期では、ラミンの発現が分化段階特異的に制御されており、核構造と結びついたゲノムの三次元空間配置と密接に関

係している。前澤班は A03-1 岡田班と連携して精母細胞および各分化段階の精子細胞を分取し (図 B)、それぞれのラミン結合状態を明らかにすることで、減数分裂期～核凝縮に伴う染色体の時空間的構造変化を明らかにする。既に岡田班から前澤班へ、分取細胞の提供を開始している。

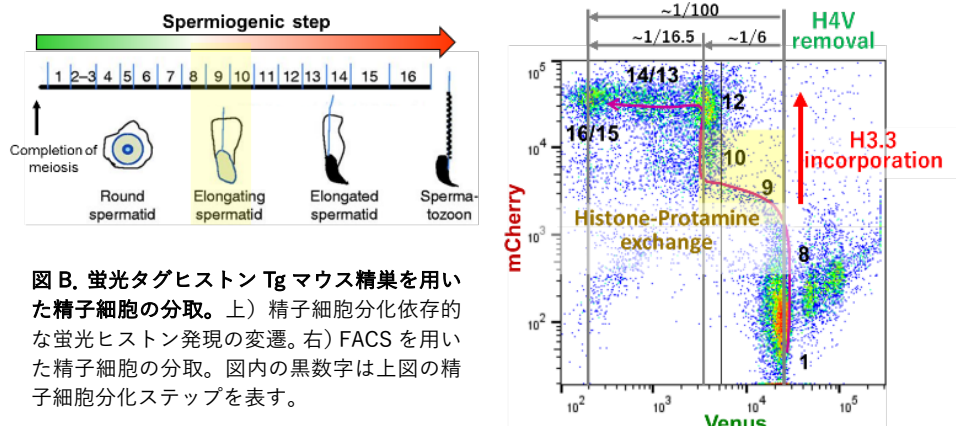
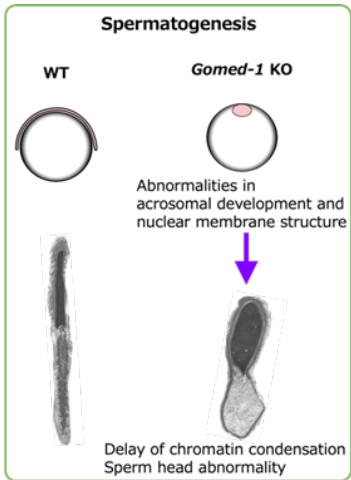


図 B. 蛍光タグヒストン Tg マウス精巣を用いた精子細胞の分取。上) 精子細胞分化依存的な蛍光ヒストン発現の変遷。右) FACS を用いた精子細胞の分取。図内の黒数字は上図の精子細胞分化ステップを表す。

**(公募・荒川) 精子クロマチンの物性変化や核形態変化へのアクロソームと核膜孔の役割の解明**

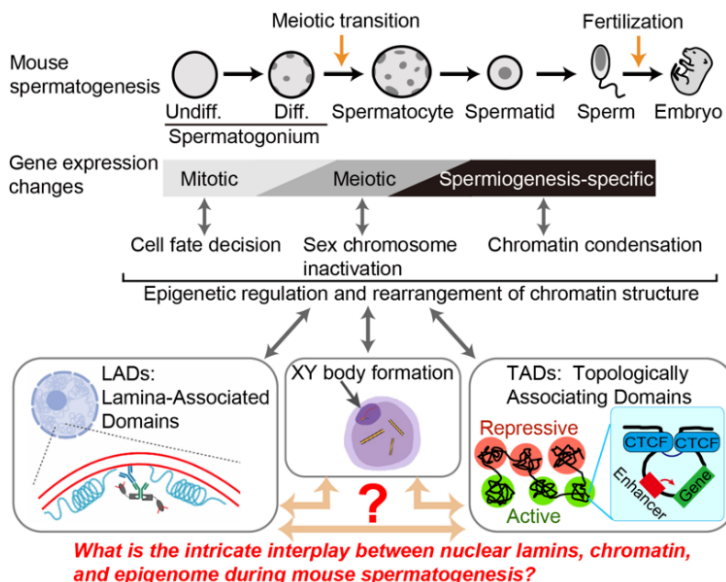
**目標 3-1** 荒川班では、ヒト不妊症モデルとして、さらに核サイズを規定する核外因子が核凝縮に与える影響の検討として（目標 1-1 に関連）、雄性不妊を呈するゴルジ体依存的タンパク分解機構 GOMED 欠損マウスの表現型解析を行った。精巣と精子の電子顕微鏡解析によって、KO マウスでは (1) アクロソームが変形し精子の核を取り囲む過程以降に異常が出現すること、(2) 精子の核膜孔の分布に異常が見られること、(3) 核のクロマチン濃縮が遅滞することを見出した。この結果は、精子形成において核周囲構造がクロマチン凝縮に影響を与えることを示唆する知見であり、岡田班の目標 1-1 の研究 (人工小胞のサイズを変化させる) に有用な知見を提供した (図 C)。



**図 C. GOMED 欠損マウスの精子形成異常。** GOMED 欠損マウス精子細胞では円型精子細胞でアクロソーム伸長不全があり、その後精子核の伸長異常、クロマチン凝縮の遅延や偏りが見られた。

**(公募・前澤) 精子形成を司る多元的クロマチン制御**

前澤班は核ラミナ-クロマチン-エピゲノムの相互作用が織りなす、精子形成を司るゲノムモダリティを解明する。特に岡田班と上記目標 2-2 で連携し、減数分裂後の精子変態過程におけるヒストン-プロタミン置換に影響を与える精子形成期のエピゲノム形成機構や、ヒストン-プロタミン置換に先駆けて生じるラミンの局在変化や消失の分子機構の解明を目指す。



以上のように当計画班の研究は、他の計画班および公募班と密接に連携しながら順調に進捗している。

【目標】

白髭班は、発生・分化異常を示す遺伝性疾患として知られているコヒーシン病の関連因子による転写制御機構について、DNA 物性・モダリティ制御因子の特性と関連づけて明らかにすることを目標としている。コヒーシン及びその関連遺伝子の機能喪失型変異は、代表的なコヒーシン病であるコルネリア・デ・ランゲ症候群 (CdLS) の原因であり、また転写伸長因子 AFF4 の機能獲得変異も CdLS 類似疾患 (CHOPs 症候群) の原因となる。両疾患の原因はこれらの因子を介した転写サイクル制御の破綻であることがこれまでに強く示唆されているが、その詳細なメカニズムは不明である。そこで白髭班では、コヒーシン及び関連因子による転写制御の実態をゲノム学、遺伝学と生化学を動員して解明する。

(目標 1) 核内染色体構造の高解像度可視化を通じたコヒーシン及びその関連因子の機能解明

(目標 2) *in vitro* 転写系を用いた CdLS、CHOPs 症候群の転写病態の再構成

(目標 3) コヒーシン及びその関連因子による転写制御ネットワークの情報学的再構成

【成果】

目標 1 については、CdLS 及び CHOPs 症候群患者由来の培養細胞において、Micro-C による染色体構造の解析を実施している。これまでに、転写制御に深く関連する EPI (Enhancer-Promoter Interaction) を解析したところ、転写が減少する遺伝子においてより多くの EPI の減弱が見られた。また、これらの転写減少遺伝子及びエンハンサーでは、コヒーシンの結合の減少が認められることから、コヒーシンを介した EPI の減弱が転写減少の一因であることが示唆された。さらに ChIP-seq 解析では、転写上昇、減少遺伝子で転写伸長因子 AFF4 の増加と転写共役因子 BRD4 の減少がそれぞれ認められた。この BRD4 も CdLS の原因遺伝子として最近報告されている。また、コヒーシンローダー、NIPBL 及び AFF4 に変異を導入した疾患モデル細胞においても同様の結果が得られた。以上の結果は、コヒーシンがこれらの因子が関わる転写のモダリティ制御ネットワークを適切にチューニングしており、その破綻が転写異常に繋がることを示唆している。

目標 2 については、既に HeLa 核抽出液を用いて転写開始から伸長反応を再構成する系を構築しており、この系を活用して、コヒーシンとその関連因子の転写開始から伸長反応における機能を生化学的に解析している。これまでに核抽出液からコヒーシンローダーの免疫的除去を行なったところ、AFF4 を含む転写伸長因子の転写伸長複合体への取り込みが促進された。一方、AFF4 の免疫的除去を行なったところ、コヒーシンローダーの転写伸長複合体への取り込みが促進された。以上の結果から、これらの因子は転写伸長複合体において競合的に機能していることが示唆された。また、これらの結果に一致して、この系に野生型及び、CHOPs 変異型の AFF4 のいずれを加えた場合も、コヒーシンローダーと BRD4 の伸長複合体への取り込みの減少が認められている。以上の *in vitro* 解析の結果は ChIP-seq による細胞内での解析結果とよく一致するものである。今後は、患者由来の細胞、あるいは疾患モデル細胞の抽出液を用いて、転写のどの段階に異常が生じているかについて段階的に転写反応を停止させて解析していく。

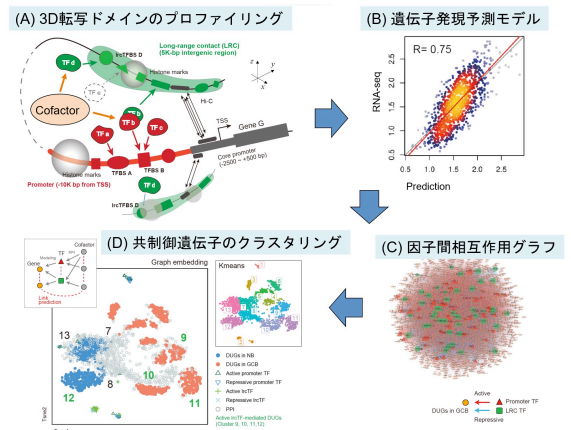
これと並行して、光ピンセット C-Trap を用いたタンパク質-DNA 相互作用の 1 分子観察実験のために、東大定量研においてメーカー担当者を招き機器のトレーニングを行い、白髭班・西山班が参加した。これまでに、白髭班では 1 分子のコヒーシンの DNA 結合様態、DNA 高次構造形成や転写における役割について実験を行っている。今後は白髭・西山班が連携した実験についても計画中である。

目標 3 については、白髭と泉の実験系から産生された NGS データ及び、公共データから朴が *in silico* 解析を実施している。情報基盤の構築に関しては、これまでにマウス ES 細胞を用いて、コヒーシン因子を含む各種クロマチン制御因子の局在データ (55 ChIP-seq サンプル)、新生転写物のプロファイル (2 EU-seq サンプル)、ゲノムコンタクトーム (2 Micro-C サンプル) を解析している。これらの独自ゲノム解析と並行して、公共 Hi-C、ChIP-seq、ATAC-seq の 90 サンプル以上の大規模データ解析を実施し、その一部はゲノムモダリティ・スイート (GMS、<https://gmsuite.hgc.jp/>) で公開した。

また、2-kb 解像度コンタクト情報から全染色体の全 10Mb 長領域を 3D モデリングした (公募班・新海との共同研究)。今後、より高解像のゲノム 3D マップにコヒーシン結合部位などの各種情報を付加して解析する予定であるが、その一環として、ABC Model による 131 ヒト細胞種の EPI 情報を整理したゲノムブラウザを公開している。さらに、数理モデリング手法の開発に関して、上述の各種 NGS 解析データ



を用いた 3D 転写ドメインを定量的に解析するアルゴリズムを開発し、ブラッシュアップを進めている (右図)。この方法では、線形回帰モデルと深層学習法による転写重要因子の推定と、グラフ埋め込み技法による 3D 転写ドメイン内の制御因子間相互作用の分類と可視化が可能である。本手法によって、パイロットデータであるヒト B 細胞分化において、プロモーター依存的・長距離コンタクト依存的な制御因子の差別化された転写調節能とその組み合わせ、及び、転写因子間に架橋するコファクターやメディエーターの機能的な重要性が明らかになった。以上の成果は、コヒーシオン関連因子を中心とした転写制御ネットワークの情報学的再構成に向けた我々のアプローチの有効性を示すものである。



以上のように、いずれの目標においても順調な進捗をこれまでに得ることができている。特に、目標 1、2 については、これまでに得られた成果を学術論文として発表するべく、投稿準備を現在行なっている。同時に、そのメカニズムの詳細を理解するべくさらに研究を続けている。目標 3 についても関連する解析データとモデリング法が GMS にて公開準備中である。

### (公募・落合) 不活性化 X 染色体の決定におけるゲノムモダリティ制御要因の解明

落合班は X 染色体の不活性化に着目しており、この制御に関わる鎖非コード RNA、Xist と Tsix の転写活性とゲノム領域のライブイメージングを実施することで、ゲノムモダリティ制御要因の解明を試みている。これまでに、メスマウス胚性幹細胞を分化誘導し、経時的に Xist および Tsix の転写活性化状態を可視化したところ、未分化状態で両対立的に発現している Tsix の転写は次第に減少し、Xist の転写が分化に伴って上昇することがわかった。また、Tsix/Xist の転写活性とゲノム領域のライブイメージングが可能な細胞株で利用した技術を発展させ、遺伝子機能を損なうことなく、特定遺伝子領域の転写開始点近傍の細胞核内局在と転写活性を同時に定量する技術を確認した (Ohishi et al., 2023)。

### (公募・深谷) DNA ループ形成動態のモダリティ

深谷班では、エンハンサーなどの調節領域と遺伝子の相互作用の動的性質の解明に着目して研究を進めている。これまでに、特に核内における DNA 結合タンパク質の物性変化がどのように遺伝子発現に影響を及ぼすのかについて解析を進めた。その結果、エンハンサー上における転写因子やコアクティベーターの動的な局所濃度の変化が、転写バーストを誘導する主たる原動力として働くことを解き明かすことに成功した (Kawasaki and Fukaya, 2023)。さらに、こうした転写因子の局所濃度変化は、エンハンサー近傍で起こる非コード RNA によっても制御されることを解き明かした (Hamamoto et al., 2023)。また、全く同一のエンハンサーの制御下にある遺伝子であっても、コアプロモーター配列の違いによって転写バーストの振幅や頻度といったパラメーターが柔軟に変化することを実験的に解き明かした (Yokoshi et al., 2022)。以上の成果は、ポリマーとしての DNA の立体構造や機能が、生体内においてどのように揺らいでいるのかという本領域の中心的な問いに重要な知見を与えるものである。

### (公募・前原) データ駆動的な位相図の再構成によるゲノム様式変化の理解

前原班は、クロマチンの状態変化を示すクロマチン・フローの計測法を樹立し、独自の数理解析技術である複雑ダイナミクスの要約法と組み合わせることで、クロマチン状態変化の位相図を構成し、複雑なクロマチン動態の定性的理解を試みている。これまでに、クロマチンフローの計測および数理解析の基盤となる技術を確認し、特に組織切片をターゲットとした少数細胞エピゲノム計測法、および単一細胞遺伝子発現データの情報解析技術について論文成果を得ている。また、独自技術である ChIL-seq を発展させ、単一細胞内でゲノムワイドに複数のタンパク質の局在を同時検出したデータを取得・解析することで、ゲノムモダリティの変化 (微分) を測定・モデル化し、分化・発生の定性的変化を決定づけるクロマチン状態の同定を目指し、解析を行なっている。

以上のように、いずれの公募班も順調な進捗をこれまでに得ることができおり、得られた成果の一部は既に学術論文として発表している。今後も設定目的の達成に向けて研究を進めていく。



## 7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、主催シンポジウム等の状況。令和5年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

### ●文献（全て査読あり）

#### A01-1 計画班・高田/剣持/石本/山本

Nagae, F., Takada, S., \*Terakawa, T., (2023) Histone chaperone Nap1 dismantles an H2A/H2B dimer from a partially unwrapped nucleosome, *NAR*, doi/10.1093/nar/gkad396

\*Yamamoto, T., Schiessel, H. (2022) Loop extrusion driven volume phase transition of entangled chromosomes. *Biophys. J.*, 121, 2742-2750

Brandani, GB., Tan, C., \*Takada, S., (2021) The kinetic landscape of nucleosome assembly: a coarse-grained molecular dynamics study, *PLoS. Comp. Biol.* 17 e1009253.

\*Yamamoto, T., Sakaue, T., Schiessel, H. (2021) Slow chromatin dynamics enhances promoter accessibility to transcriptional condensates. *NAR*, 49: 5017-5027, APRIL 22.

Tan, C., \*Takada, S., (2020) Nucleosome allostericity in pioneer transcription factor binding, *PNAS* 117 20586-20596.

#### A01-1 公募班・古川

Furukawa A., Wakamori M., Arimura Y., Ohtomo H., Tsunaka Y., Kurumizaka H., Umehara T., \*Nishimura Y. (2022) Characteristic H3 N-tail dynamics in the nucleosome core particle, nucleosome, and chromatosome. *iScience*, 25: 25: 103937

#### A01-1 公募班・坂上

Fosado, Y.A.G., Landuzzi, F., \*Sakaue, T. (2023) Coarse Graining DNA: Symmetry, Non-local Elasticity and Persistence Length. *Physical Review Letters*, 130: 058402

#### A01-2 計画班・瀧ノ上/鈴木

Sato, Y., \*Takinoue, M. (2023) Sequence-dependent fusion dynamics and physical properties of DNA droplets. *Nanoscale Adv.*, 5: 1919–1925

Udono, H., Gong, J., Sato, Y., \*Takinoue, M. (2023) DNA Droplets: Intelligent, Dynamic Fluid. *Adv. Biol.*, 7: e2200180

Sato, Y., \*Takinoue, M. (2022) Capsule-like DNA Hydrogels with Patterns Formed by Lateral Phase Separation of DNA Nanostructures. *JACS Au*, 2: 159–168

Masukawa, M.K., Sato, Y., Yu, F., Tsumoto, K., Yoshikawa, K., \*Takinoue, M. (2022) Water-in-Water Droplets Selectively Uptake Self-Assembled DNA Nano/Microstructures: a Versatile Method for Purification in DNA Nanotechnology. *ChemBioChem*, 23: e202200240

Lu, T., Liese, S., Schoenmakers, L., Weber, C. A., Suzuki, H., Huck, W. T. S., \*Spruijt, E. (2022) Endocytosis of Coacervates into Liposomes. *J. Am. Chem. Soc.*, 144(30): 13451-13455

Gong, J., Tsumura, N., Sato, Y., \*Takinoue, M. (2022) Computational DNA droplets recognizing miRNA sequence inputs based on liquid–liquid phase separation. *Adv. Funct. Mater.*, 32: 2202322

Ushiyama, R., Koiwai, K., \*Suzuki, H. (2022) Plug-and-Play Microfluidic Production of Monodisperse Giant Unilamellar Vesicles Using Droplet Transfer across Water-Oil Interface. *Sens. Act. B: Chemical*, 355: 131281

Shinohara, K., Okita, T., Tsugane, M., Kondo, T., \*Suzuki, H. (2021) Sizing of Giant Unilamellar Vesicles Using a Metal Mesh with a High Opening Ratio. *Chem. Phys. Lipids*, 241: 105148

Masukawa, M.K., Okuda, Y., \*Takinoue, M. (2021) Aqueous Triple-Phase System in Microwell Array for Generating Uniform-Sized DNA Hydrogel Particles. *Front. Genet.*, 12: 1113

Wakamori, M., \*Okabe, K., Ura, K., Funatsu, T., \*Takinoue, M., \*Umehara, T. (2020). Quantification of the effect of site-specific histone acetylation on chromatin transcription rate. *NAR*, 48: 12648–12659

#### A01-2 公募班・Wong

Lim, K., Nishide, G., Sajidah, E.S., Yamano, T., Qiu, Y., Yoshida, T., Kobayashi, A., Hazawa, M., Ando, T., Hanayama, R., \*Wong, R.W. (2023) Nanoscopic assessment of anti-SARS-CoV-2 spike neutralizing antibody using high-speed AFM. *Nano Letters*, Jan 25;23(2):619-628.

Sajidah, E.S., ...\*Wong, R.W. (2022) Spatiotemporal tracking of small extracellular vesicle nanotopology in response to physicochemical stresses revealed by HS-AFM. *JEV*, Nov;11(11):e12275.

Makiyama, K., Hazawa, M., Kobayashi, A., Lim, K., Voon, V.C., \*Wong, R.W. (2022) NSP9 of SARS-CoV-2 attenuates nuclear transport by hampering nucleoporin 62 dynamics and functions in host cells. *BBRC* 586, 137-142

Lim, K., Nishide, G., Yoshida, T., Watanabe-Nakayama, T., Kobayashi, A., Hazawa, M., Hanayama, R., Ando, T., \*Wong, R.W. (2021) Millisecond dynamic of SARS-CoV-2 spike and its interaction with ACE2 receptor and small extracellular vesicles. *JEV* Dec;10(14): e12170.

Hazawa, M., Amemori, S., Nishiyama, Y., ... \*Wong, R.W. (2021) A light-switching pyrene probe to detect biomolecular phase separation. *iScience* Jul 15;24(8):102865.

Nishide, G., Lim, K., ... \*Wong, R.W. (2021) High-Speed Atomic Force Microscopy reveals spatiotemporal dynamics of histone Protein H2A involution by DNA inchworming. *J. Phys. Chem. Lett.* Apr 14: 3837–3846

A01-2 公募班・梅原

Kikuchi, M., Morita, S., Wakamori, M., Sato, S., Uchikubo-Kamo, T., Suzuki, T., Dohmae, N., Shirouzu, M., \*Umehara, T. (2023) Epigenetic mechanisms to propagate histone acetylation by p300/CBP. *Nat. Commun.* in press

A02-1 計画班・前島/日比野/杉山/谷口

\*Maeshima, K., Iida, S., Shimazoe, M.A., Tamura, S., Ide, S., Is euchromatin really open in the cell? (2023) *Trends in Cell Biology*, in press.

Nozaki, T., Shinkai, S., Ide, S., ... \*Maeshima, K., Condensed but liquid-like domain organization of active chromatin regions in living human cells. (2023) *Sci. Advances*, 9, eadf1488.

\*Maeshima, K., Meshorer, E., Editorial Overview: Emerging concepts and tools in genome organization and chromatin function in eukaryotes. (2022) *Curr Opin Cell Biol.*, 78, 102120.

\*Maeshima, K., A phase transition for chromosome transmission when cells divide. *Nature*, 609, 35-36.

Ide, S., Tamura, S., \*Maeshima, K., Chromatin behavior in living cells: lessons from single-nucleosome imaging and tracking. (2022) *BioEssays*, 44, 2200043.

Iida, S., Shinkai, S., Itoh, Y., Tamura, S., Kanemaki, M.T., Onami, S., \*Maeshima, K., Single-nucleosome imaging reveals steady-state motion of interphase chromatin in living human cells. (2022) *Sci. Advances*, 8, eabn5626.

Hatanaka, J., Hashiya, K., Bando, T., \*Sugiyama, H., Substitution to hydrophobic linker and formation of host-guest complex enhanced the effect of synthetic transcription factor made of pyrrole-imidazole polyamide. (2023) *Bioorg Med Chem*, 81: 117208

Sahayasheela, V. J., Yu, Z., Hidaka, T.; Pandian, G. N., \*Sugiyama, H., Mitochondria and G-quadruplex evolution: an intertwined relationship (2023) *Trends in Genetics*, 39: 15

Matsui, Y., Mineharu, Y., Noguchi, Y., Hattori, E. Y., Kubota, H., Hirata, M., Miyamoto, S., \*Sugiyama, H., \*Arakawa, Y., \*Kamikubo, Y., Chlorambucil-conjugated PI-polyamides (Chb-M'), a transcription inhibitor of RUNX family, has an anti-tumor activity against SHH-type medulloblastoma with p53 mutation. (2022) *BBRC*, 620: 150

Hattori, E. Y., ... \*Sugiyama, H., \*Arakawa, Y., \*Kamikubo, Y., A RUNX-targeted gene switch-off approach modulates the BIRC5/PIF1-p21 pathway and reduces glioblastoma growth in mice. (2022) *Commun. Biol.*, 5: 939

Hatanaka, J., Hirose, Y., Hashiya, K., \*Bando, T., \*Sugiyama, H., N-terminal cationic modification of linear pyrrole-imidazole polyamide improves its binding to DNA. (2022) *Chembiochem*, 23: e202200124,

Ramasamy, S., Mishra, S., Sharma, S., ... \*Sugiyama, H., \*Pandian, G. N., An informatics approach to distinguish RNA modifications in nanopore direct RNA sequencing. (2022) *Genomics*, 114: 110372

Sethi, S., Emura, T., Hidaka, K., \*Sugiyama, H., \*Endo, M., Photocontrolled DNA nanotubes as stiffness tunable matrices for controlling cellular behavior. (2022) *Nanoscale*, 15: 2904

Kumar, V., Leclerc, S., Taniguchi, Y., Single molecule detection in the study of gene expression. (eds. Appasani, K. and Appasani, R. K.), (2022) *Cambridge University Press*, 127-141.

\*Ide, S., Sasaki, A., Kawamoto, Y., Bando, T., Sugiyama, H., Maeshima, K., Telomere-specific chromatin capture using a pyrrole-imidazole polyamide probe for the identification of proteins and non-coding RNAs. (2021) *Epigenetics & Chromatin*, 14, 46.

\*Hansen, J.C., \*Maeshima, K., \*Henzel, M.J., The solid and liquid states of chromatin. *Epigenetics & Chromatin*. (2021) *Epigenetics & Chromatin*, 14, 50.

Itoh, Y., Woods, E.J., Minami, K., \*Maeshima, K., \*Collepardo-Guevara, R., Liquid-like chromatin in the cell: What can we learn from imaging and computational modeling? (2021) *Curr Opin in Struct Biol.*, 71, 123–135.

\*Maeshima, K., Iida, S., Tamura, S., Physical nature of chromatin in the nucleus. (2021) *Cold Spring Harb. Perspect. in Biol.*, 13, a040675.

Hidaka, T., Wee, W. A., Yum, J. H., \*Sugiyama, H., \*Park, S., Photo-controllable phase transition of arylazopyrazole-conjugated oligonucleotides. (2021) *Bioconjugate Chemistry*, 32: 2129

Malinee, M., \*Pandian, G. N., \*Sugiyama, H., Targeted epigenetic induction of mitochondrial biogenesis enhances antitumor immunity in mouse model. (2021) *Cell Chemical Biology*, 29: 463

Sethi, S., Hidaka, K., \*Sugiyama, H., \*Endo, M. Non-invasive regulation of cellular morphology using a photoswitchable mechanical DNA polymer. (2021) *Angew Chem Int Ed*, 60: 20342

Hidaka, T., Hashiya, K., Bando, T., \*Pandian, G. N., \*Sugiyama, H., Targeted elimination of mutated mitochondrial DNA by a multi-functional conjugate capable of sequence-specific adenine alkylation. (2021) *CCB*, 29: 1

Maeda, R., \*Bando, T., \*Sugiyama, H. (2021) Application of DNA-alkylating pyrrole-imidazole polyamides for cancer

treatment. *Chembiochem*, 22: 1538

- Jonchhe, S., Pandey, S., Beneze, C., Emura, T., \*[Sugiyama, H.](#), \*Endo, M., \*Mao, H., Dissection of nanoconfinement and proximity effects on the binding events in DNA origami nanocavity. (2021) *NAR*, 50: 697
- Hirose, Y., Ohno, T., ... \*[Bando, T.](#), \*[Sugiyama, H.](#), Strong and specific recognition of CAG/CTG repeat DNA (5'-dWGCWGCW-3') by a cyclic pyrrole-imidazole polyamide. (2021) *Chembiochem*, 23: e202100533
- Ohno, M., Ando, T., Priest, D., \*[Taniguchi, Y.](#), Hi-CO: 3D genome structure analysis with nucleosome resolution. (2021) *Nature Protocols*, 16, 3439-3469.
- Itoh, Y., Iida, S., Tamura, S., Nagashima, R., Shiraki, K., Goto, T., [Hibino, K.](#), Ide, S., \*[Maeshima, K.](#) (2021) 1,6-hexanediol rapidly immobilizes and condenses chromatin in living human cells. *Life Sci. Alliance*. 4, e20200100.

#### A02-1 公募班・新海

- Nozaki, T., [Shinkai, S.](#), Ide, S., ... \*[Maeshima, K.](#), Condensed but liquid-like domain organization of active chromatin regions in living human cells. (2023) *Sci. Advances*, 9, eadf1488.
- \*[Shinkai, S.](#), Itoga, H., Kyoda, K., \*Onami, S. (2022) PHi-C2: interpreting Hi-C data as the dynamic 3D genome state. *Bioinformatics*, 38(21): 4984–4986.
- Iida, S., [Shinkai, S.](#), Itoh, Y., Tamura, S., Kanemaki, M.T., Onami, S., \*[Maeshima, K.](#), Single-nucleosome imaging reveals steady-state motion of interphase chromatin in living human cells. (2022) *Sci. Advances*, 8, eabn5626.

#### A02-2 計画班・西山

- Tane, S., Shintomi, K., Kinoshita, K., Tsubota, Y., Yoshida M. M., [Nishiyama, T.](#), \*[Hirano, T.](#) (2022) Cell cycle-specific loading of condensin I is regulated by the N-terminal tail of its kleisin subunit. *eLife* 11: e84694.
- Kinoshita, K., Tsubota, Y., Tane, S., ... [Nishiyama, T.](#), \*[Hirano, T.](#) (2022) A loop extrusion-independent mechanism contributes to condensin I-mediated chromosome shaping. *JCB* 221: e202109016.
- Sakata, R., Niwa, K., Ugarte La Torre, D., Gu, C., Tahara, E., [Takada, S.](#), \*[Nishiyama, T.](#) (2021) Opening of cohesin's SMC ring is essential for timely DNA replication and DNA loop formation. *Cell Reports*, 35: 108999, APRIL 27

#### A02-2 公募班・原(幸)

- [Hara, K.](#), Hishiki, A., ... \*Hashimoto, H. (2023) The 9-1-1 DNA clamp subunit RAD1 forms specific interactions with clamp loader RAD17, revealing functional implications for binding-protein RHINO. *JBC*, 299(4): 103061
- Hishiki, A., Okazaki, S., [Hara, K.](#) \*Hashimoto, H. (2022) Crystal structure of the sliding clamp from the Gram-positive anaerobic bacterium *Clostridioides difficile*. *J. Biochem.*, 173(1): 13-20

#### A02-3 計画班・平野

- Tane, S., Shintomi, K., Kinoshita, K., Tsubota, Y., Yoshida M. M., [Nishiyama, T.](#), \*[Hirano, T.](#) (2022) Cell cycle-specific loading of condensin I is regulated by the N-terminal tail of its kleisin subunit. *eLife* 11: e84694.
- Yoshida, M. M., Kinoshita K., Aizawa Y., Tane, S., Yamashita, D., Shintomi, K., \*[Hirano, T.](#) (2022) Molecular dissection of condensin II-mediated chromosome assembly using in vitro assays. *eLife* 11: e78984.
- Kinoshita, K., Tsubota, Y., Tane, S., ... [Nishiyama, T.](#), \*[Hirano, T.](#) (2022) A loop extrusion-independent mechanism contributes to condensin I-mediated chromosome shaping. *JCB* 221: e202109016.
- Shintomi, K., \*[Hirano, T.](#) (2021) Guiding functions of the C-terminal domain of topoisomerase IIa advance mitotic chromosome assembly. *Nat. Commun.* 12: 2917.

#### A02-3 公募班・深川

- Uchida, K.S.K., Jo, M., ... [Fukagawa, T.](#), \*Hirota, T. (2021) Kinetochore stretching-mediated rapid silencing of the spindle-assembly checkpoint required for failsafe chromosome segregation. *Curr. Biol.*, 31: 1581-1591.e3
- Nishimura, K., \*[Fukagawa, T.](#) (2021) A Simple Method to Generate Super-sensitive AID (ssAID)-based Conditional Knockouts using CRISPR-based Gene Knockout in Various Vertebrate Cell Lines. *Bio Protocol.*, 11: e4092, Jul 20.
- Nishimura, K., \*[Fukagawa, T.](#) (2021) A Simple Method that Combines CRISPR and AID to Quickly Generate Conditional Knockouts for Essential Genes in Various Vertebrate Cell Lines. *Methods in Mol Biol.*, 2377: 109-122
- Watanabe, R., Hirano, Y., Hara, M., Hiraoka, Y., \*[Fukagawa, T.](#) (2022) Mobility of kinetochore proteins measured by FRAP analysis in living cells. *Chromosome Res.*, 30: 43-57
- Takenoshita, Y., Hara, M., \*[Fukagawa, T.](#) (2022) Recruitment of two Ndc80 complexes via the CENP-T pathway is sufficient for kinetochore functions. *Nature Commun.*, 13: 851
- Sridhar, S., \*[Fukagawa, T.](#) (2022) Kinetochore Architecture Employs Diverse Linker Strategies Across Evolution. *Frontier Cell Dev. Biol.*, 30: 43-57
- \*[Fukagawa, T.](#), \*Kakutani, T. (2023) Transgenerational epigenetic control of constitutive heterochromatin, transposons, and centromeres. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 78: 102021
- Jiang, H., Ariyoshi, M., Hori, T., Watanabe, R., Makino, F., Namba, K., \*[Fukagawa, T.](#) (2023) The cryo-EM structure of the CENP-A nucleosome in complex with ggKNL2. *EMBO J.*, 42: e111965

#### A02-3 公募班・田中

- Iemura, K., Anzawa, H., Funayama, R., Iwakami, R., Nakayama, K., Kinoshita, K., \*[Tanaka, K.](#) High levels of chromosomal instability facilitate the tumor growth and sphere formation. (2022) *Cancer Science* 113: 2727-2737
- Iemura, K., Yoshizaki, Y., Kuniyasu, K., \*[Tanaka, K.](#) Attenuated chromosome oscillation as a cause of chromosomal

- instability in cancer cells. (2021) *Cancers* 13: 4531
- Campos Medina, M., Iemura, K., Kimura, A., \*Tanaka, K. A mathematical model of kinetochore-microtubule attachment regulated by Aurora A activity gradient describes chromosome oscillation and correction of erroneous attachments. (2021) *Biomed Research* 42: 203-219.
- Iemura, K., Natsume, T., Maehara, K., Kanemaki, M., T., \*Tanaka, K. Chromosome oscillation promotes Aurora A-dependent Hec1 phosphorylation and mitotic fidelity. (2021) *JCB* 220: e202006116
- A03-1 計画班・岡田/元池
- \*Okada Y. “Sperm chromatin structure: Insights from in vitro to in situ experiments”. *Curr Opin Cell Biol.* 2022 Apr; 75:102075.
- Fukuda Y, Shintomi K, Yamaguchi K, Fujiwara Y, \*Okada Y. “Solubilization of Mouse Sperm Chromatin for Sequencing Analyses Using a Chaperon Protein”. *Methods Mol Biol.* 2023; 2577:161-173.
- \*Okada Y. “Sperm chromatin condensation: epigenetic mechanisms to compact the genome and spatiotemporal regulation from inside and outside the nucleus”. *Genes Genet Syst.* 2022 Jun 4;97(1):41-53.
- Kim CR, ..Okada Y., \*Ikawa M, \*Baek SH. “PHF7 Modulates BRDT Stability and Histone-to-Protamine Exchange during Spermiogenesis”. *Cell Rep.* 2020 Jul 28;32(4):107950.
- A03-1 公募班・荒川
- Kira A, ...Arakawa S., \*Kawane K. Apoptotic extracellular vesicle formation mediated by local phosphatidylserine exposure drives efficient cell extrusion, *Dev Cell in press*
- Sakurai HT, Arakawa S., Noguchi S, \*Shimizu S. FLIP-based autophagy-detecting technique reveals closed autophagic compartments. *Sci Rep*, 12(1):22452, 2022.
- A03-1 公募班・前澤
- \*Sakashita, A., Ooga, M., Otsuka, K., Maezawa, S., ... \*Namekawa, S.H. (2023), Polycomb protein SCML2 mediates paternal epigenetic inheritance through sperm chromatin. *NAR, in press*
- A03-2 計画班・白髭/泉/朴
- Wang, J., Bando, M., Shirahige, K., \*Nakato, R. (2022) Large-scale multi-omics analysis suggests specific roles for intragenic cohesin in transcriptional regulation. *Nat. Commun.*, 13: 3218
- Zeng, X., Park, S.J., \*Nakai K. (2021) Characterizing promoter and enhancer sequences by a deep learning method. *Frontiers in Genetics*, 12: 681259
- Ochi, Y., ...Shirahige, K., \*Ogawa, S. (2020) Combined Cohesin-Runx1 Deficiency Synergistically Perturbs Chromatin Looping and Causes Myelodysplastic Syndromes. *Cancer Discovery*, 10: 836-853
- A03-2 公募班・深谷
- Kawasaki K, \*Fukaya T. (2023) Functional coordination between transcription factor clustering and gene activity. *Mol Cell. in press*
- Hamamoto K, Umemura Y, Makino S, \*Fukaya T. Dynamic interplay between non-coding enhancer transcription and gene activity in development. *Nat. Communications*. 14(1):826. 2023
- Takeuchi C, Yokoshi M, Kondo S, Shibuya A, Saito K, Fukaya T., \*Siomi H, \*Iwasaki Y.W. Mod(mdg4) variants repress telomeric retrotransposon HeT-A by blocking subtelomeric enhancers. *NAR* 50(20):11580-11599. 2022
- A03-2 公募班・落合
- Ohishi, H., Shimada, S., Uchino, S., ... \*Kimura, H., \*Ochiai, H. (2022) STREAMING-tag system reveals spatiotemporal relationships between transcriptional regulatory factors and transcriptional activity. *Nat. Commun*, 13: 7672, DECEMBER 20
- Matsumori, H., \*Watanabe, ...\*Ochiai, H., \*Saitoh, N. (2022) Ribosomal protein L5 facilitates rDNA-bundled condensate and nucleolar assembly. *Life Sci Alliance*, 5: e202101045, MARCH 23
- A03-2 公募班・前原
- Yoshimoto Y, Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, ... Maehara K., Ohkawa Y, Sotomaru Y, \*Shukunami C. (2022) Tenogenic Induction From Induced Pluripotent Stem Cells Unveils the Trajectory Towards Tenocyte Differentiation. *Front Cell Dev Biol*, 10:780038.
- Fujii T, \*Maehara K. (共同筆頭&責任著者), Fujita M, \*Ohkawa Y. (2021) Discriminative feature of cells characterizes cell populations of interest by a small subset of genes. *PLoS Comput Biol*, 17(11): e1009579.
- Maehara K., Tomimatsu K, Harada A, ... \*Ohkawa Y. (2021) Modeling population size independent tissue epigenomes by ChIL-seq with single thin sections. *Mol Syst Biol*, 17(11): e10323.
- Matsuzaki F, Uda S, ... Maehara K., Ohkawa Y, ... \*Kubota H. (2021) An extensive and dynamic trans-omic network illustrating prominent regulatory mechanisms in response to insulin in the liver. *Cell Rep*, 36(8):109569.
- Honda M, \*Oki S, Kimura R, Harada A, Maehara K., Tanaka K, Meno C, \*Ohkawa Y. (2021) High-depth spatial transcriptome analysis by photo-isolation chemistry. *Nat Commun*, 12(1): 4416.
- \*Tachiwana H, Dacher M, Maehara K., ... Kurumizaka H, Saitoh N. (2021) Chromatin structure-dependent histone incorporation revealed by a genome-wide deposition assay. *eLife*, 10:e66290.

## ●書籍

A01

Tezuka, Y., Deguchi, T. [editors] (2022) “Topological Polymer Chemistry”, Springer

\*Sakae, T., Michieletto, D. Entanglement in Solution of Non-concatenated Rings. p.355-363

Masahiro Takinoue (2021) Encyclopedia of Robotics (Ang M.H., Khatib O., Siciliano B. (eds)), Springer, “Manipulation technologies for molecular robots”, DOI: 10.1007/978-3-642-41610-1\_193-1 (online book).

佐藤 佑介・瀧ノ上 正造 (2020) 現代化学増刊号「相分離生物学の全貌」(白木 賢太郎 編) 東京化学同人, 第V部-49「DNA ナノテクノロジーと相分離」pp244-248.

Sunjo Joo, Yusuke Kobayashi, Jae-Hyeok Lee and Yoshiki Nishimura. Chapter 7, Organelle Heredity in Chlamydomonas sourcebook 3<sup>rd</sup> ed., edited by U.W.Goodenough. Academic Press. 2023

病理と臨床 Vol. 40 臨時増刊号「がんゲノム医療時代の分子腫瘍学: エピジェネティクス (2) ヒストン修飾の異常」pp.26-30. (2022)

A02

西山 実験医学増刊号「SMC タンパク質複合体による染色体高次構造制御」40(12) 24-31(2022) 羊土社

西山・高田・瀧ノ上・前島・平野・岡田 月刊細胞「DNA の物性から理解するゲノムモダリティ」西山朋子編 木下, 西山「姉妹染色分体間接着因子コヒーシンの一分子動態解析」生物物理 63(1), 21-23(2023)

西村, 深川, 嘉村「AID 法と 4C 解析法を組み合わせた核内セントロメア構造の解析」月刊細胞 54 (2022) 667-670.

A03

深谷 生化学 Vol.94 No.4. 2022 公益社団法人日本生化学会「液-液相分離を介した転写制御」

深谷 実験医学増刊号「転写バーストの制御メカニズム」40(12) 100-105 (2022) 羊土社

## ●産業財産権

A01

(瀧ノ上) 鈴木宏明, 牛山諒太 「W/O/W液滴の製造方法、W/O/W液滴の製造装置およびW/O/W液滴」特願 2021-075103

(Wong) ウオング ウィン チェン リチャード, マハモド シャーバノ モハンメド アベデラソロ, 小林 亜紀子, 田岡 東, 中山 隆宏, 菊池 洋輔, 羽澤 勝治, 源 利成, 福森 義宏, 古寺哲幸, 安藤敏夫, 「高速原子間力顕微鏡による細胞小器官の観察のための試料調製方法」特許第 6982863 号(日本) (2021.11.25)

## ●主催シンポジウム

A01

(山本)ゲノム生物物理学セミナー2021年8月(第1回)/2022年3月/8月(第2・3回)/2023年3月(第4回)オンライン

(山本・元池)第44回日本分子生物学会年会「ゲノムモダリティ」2021年12月 横浜

(瀧ノ上)第59回日本生物物理学学会「ゲノム DNA の生物物理学」2021年11月オンライン

(Wong)第95回日本生化学会大会「プレイオトロピックな核膜の生物学」2022年11月 名古屋

(西村)第25回植物オルガネラワークショップ「植物オルガネラの構造・動態解析の最前線」(世話人代表)

(西村)第64回日本植物生理学会年会 2023年3月 仙台

A02

(西山・前島)第74回日本細胞生物学会年会「染色体構造を制御するゲノムモダリティ」2022年6月 東京

(新海)第45回日本分子生物学会年会「細胞分裂を駆動するタンパク質集合体」2022年12月 千葉

ゲノムモデリング研究会, 2022年6月 三島

(深川)第45回日本分子生物学会年会(年会長)、2022年11月30日-12月2日 幕張

(田中)第80回日本癌学会学術総会シンポジウム Elucidating how chromosomal instability arises to identify cancer therapy targets. 2021年10月, 横浜

A03

(岡田)International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology, 2020年12月5日, オンライン

(岡田)International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology, 2022年12月5日, オンライン

(深谷)第44回分子生物学会年会「ゲノム構造と遺伝子発現の時空間ダイナミクス」2021年12月, 横浜

(落合)第39回 染色体ワークショップ 第20回 核ダイナミクス研究会 2021年12月, 新潟(オーガナイザー)

(落合)新学術領域・学術変革A合同 若手の会 2022, 2022年10月, 大阪

(前原)Challenges in single-cell data science: theory and application, Mini-symposium, 10th International Congress on Industrial and Applied Mathematics, 2023年8月, 早稲田大学

(前原)2021年バイオインフォマティクス学会年会, 企画セッション「JST さきがけ数理構造活用」2021年9月 オンライン

## 8 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 【研究項目間の連携体制】

本領域が目指すゲノムモダリティ理解を軸としたマルチスケール理論構築のために、A01-1 班が中心となり、各計画班の研究対象スケールに応じた最適な *in silico* 手法を提供し、つねに各班からの実験実証データに基づくフィードバックを得ながら、ゲノムの高次構造とモダリティ制御因子とを結ぶ理論・関係式の導出を行う。具体的には、A01-1 高田班と各計画班との連携によって、ナノスケールの DNA/ヌクレオソーム構造 (A01-1: 高田、A01-2: 瀧ノ上)、ナノスケールからメゾスケールにわたるヌクレオソーム配列・配向構造とクロマチン動態 (A02-1: 前島)、DNA ループ押し出し機構と (A02-2: 西山)、染色体凝縮機構 (A02-3: 平野)、配偶子のゲノム構造と (A03-1: 岡田)、発生・疾患における転写制御 (A03-2: 白髭) に関する実証データをもとに数理モデルを構築し、領域内の同一プラットフォーム上に集約する。これが GMS の基盤となる。

研究項目 A01 の実験系は A01-2 瀧ノ上班が担当し、マイクロ流体デバイス、光ピンセット、AFM 等を用いることで、ナノ～メゾスケールの DNA の機械物性や物理化学物性を測定、数値化し、モデル構築を容易にするパラメーターの提供を行う。

研究項目 A02 は、ヌクレオソーム、クロマチンおよび間期、分裂期染色体のメゾスケール構造を解析対象とする。ヌクレオソーム鎖の折りたたみ構造、DNA ループ構造、クロマチンファイバー構造、クロマチンドメイン構造などのメゾスケール構造体のダイナミクスを試験管内再構成系および一分子観察系で捉え、DNA 物性・モダリティ制御因子との関係を定量化する。これらの実測値を A01-1 班へ提供し、メゾスケール物理法則を明らかにする。得られたデータは研究項目 A03 (細胞スケール) におけるクロマチン構造モデル構築にも利用される。

研究項目 A03 は、A03-1 配偶子クロマチン構造と、A03-2 発生・疾患における転写制御を対象とし、細胞・組織レベルの時空間的制御によって形成されるゲノム構造を実験的に捉える。

研究項目 A02 と A03 では、研究項目 A01 から提供された数理モデルに応じて、各班が有する測定系をもちいた実測値を提供することにより、高次スケールにおける数理モデル構築を行い、GMS に還元していく。

### 【計画研究および公募研究間の連携体制】

計画研究班と公募研究班の連携体制を図3に示す。各公募班は、研究対象とそのスケールが最も近い計画研究班に紐づけされているが、連携体制はその枠を超えており、特にマルチスケール理論に分類される研究班はそれぞれ複数の研究班と連携体制をとることで、スケール間をつなぐ役割を担う。

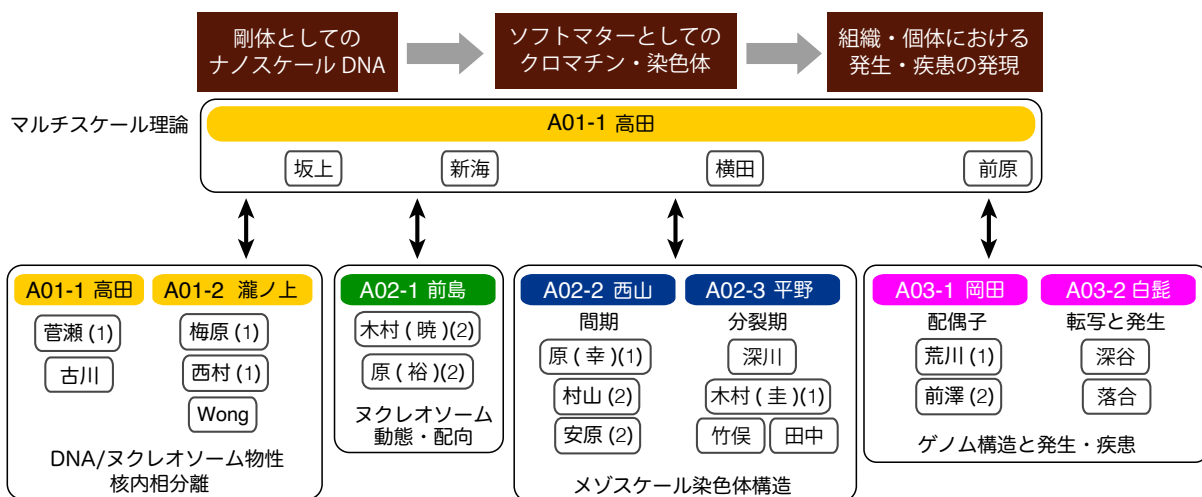


図3 計画班と公募班の連携体制：(1) は第一期のみ、(2) は第二期のみ、記載無しは両期間参画した公募研究班を示す



## 9 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、本研究領域が育成に取り組んだ「若手研究者」の定義を始めに示すこと。

本研究領域を新たな学問分野として継続的に発展させるためには、若手研究者の育成が極めて重要である。本領域では、これまでに以下の施策に取り組んだ。

### ① 若手を中心としたセミナーやワークショップの開催

若手の発表・議論の機会を増やし、様々なバックグラウンドの若手研究者との相互交流や、異分野の学会への参加を促す

### ② 研究活動に伴う費用の支援

論文校閲・掲載費用補助、各種旅費の補助（領域会議、国内外学会の旅費・参加費、海外研究室との共同研究）を行う

また、本施策において、若手研究者は、博士課程の学生および博士取得後8年未満の研究者（ライフイベント期間の除く）と定義した。

領域開始直後から積極的にアナウンスしたことが奏功し、コロナ禍にもかかわらず、2021-2022年度に以下の活動を実施できた。

### ① 2021年度は、ゲノムモダリティ領域内でオンラインにて若手の会を行った

(2022年9月、64名が参加)。DNA物性の物理学分野において多数の先駆的な研究成果をあげた吉川研一氏（同志社大学）と、クロマチン構造の新しい解釈を提唱している前島一博氏（国立遺伝研、A02-1班）が基礎から先端的内容までの講演をし、加えて気鋭の若手研究者4名が講演を行った。

2022年度は、コロナ禍の緊張感が緩和したタイミング（2022年10月31日ー11月2日）で、3つの新学術領域および学術変革領域Aの合同若手の会を合宿形式で行った。大阪府泉南市の滞在型施設(SORAりんくう)において、100名を超える若手研究者が一堂に会し、51件の口頭発表と38件のポスター発表を行った。交流イベントも行い、大学院生、博士研究員、また若手教員が互いの専門だけでなく環境などについても相互理解を深める機会になった。本領域からも本若手の会に必要な経費を支援した。

② 2021-2022年度において、1件の論文掲載費用支援（公募班）と、2件の国外学会参加費・旅費支援（ロンドンとエジンバラ）、および1件の海外共同研究支援（ノースカロライナ・Duke大学に3か月滞在）を行った。Duke大学では、人工核モデル作製に利用するマイクロ流体制御技術を導入した。2023年度よりコロナの影響がさらに緩和するため、今後も支援を拡充し、海外への成果発表や共同研究を発展させる。

加えて、本領域では女性研究者に対する支援充実を図っている。具体的には上記①②の施策に女性研究者枠を別途設け、学会参加中の託児室利用・ベビーシッター代補助も支援の対象としている。2020-2022年度は総括班の岡田（女性支援担当）とアドバイザーの Susan Gasser 博士が参加する有志の会 Women in Science Japan および新学術領域「クロマチンポテンシャル」（代表：木村宏）と連携し、日本の若手女性研究者の国際的 visibility の向上を目指し、以下のイベントを開催した。いずれも参加者から大きな反響と高い評価を得た。これらの活動を通じて、女性研究者間の国内外のネットワーキングのみならず、研究者における gender equality について男性への啓蒙にも貢献した。

・ International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology (ISFRCB 2020), 2020年12月5日、Zoom 参加登録者 314名、男女比3:7、39歳未満割合44.8%、事後評価 >90% が5段階中4または5と評価

・ ISFRCB 2022, 2022年12月5日、Zoom 参加登録者 64名、男女比3.5:6.5

・ EMBO leadership course, 2022年12月3日、東京（対面）参加者 31名（男性7名、女性24名）。事後評価アンケートでは、コース全体を通しての満足度、評価、コースの質ともに、参加者のほとんどが5段階中4または5と回答する結果となり、好評であった。



2022年3領域合同若手の会における講演の様子と集合写真

## 10 アウトリーチ活動に係る取組状況

研究領域全体を通じ、一般向けのアウトリーチ活動に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 計画班・瀧ノ上

- ・東京工業大学すずかけサイエンスデイ、一般向け科学実験講座「DNAで創るコンピュータ・ロボットと人工細胞」(来場者数400人程度) 2023年5月13-14日
- ・第27回市民教養講座「DNAでコンピュータを作る～人工細胞構築を目指した情報生命物理学～」神奈川県横浜市若葉台, 2023年2月19日
- ・NHKサイエンスZERO「生命の法則を利用する!DNAコンピューターがひらく未来」出演 2023年1月22日(番組内でDNA液滴による情報処理の研究やメディカル応用を目指した研究などが紹介された)
- ・対話イベントと展示「うごく! ふえる? 10万分の1ミリのロボット、君ならどう使う?」日本科学未来館, 2022年6月11,12,18,19日

### 計画班・前島

- ・静岡県立沼津東高等学校「職業を知るセミナー・理系研究者」2021年9月25日(約80名)2022年9月27日(約70名)
- ・静岡県三島市 錦田中学校「錦田未来講座」(講師:日比野 佳代) 2022年10月
- ・生物教育研究所・トーク&ディスカッション・講師「高校生物教科書を考える～ヌクレオソームの構造を題材に」オンライン講演 高校生物教員21人 2021年3月13日
- ・岡山県立倉敷南高校・岡山県高教研理科部会生物分科会 生物講演「全長2mのヒトゲノムDNAは細胞のなかになどのように収納され、どのようにふるまうのか?」および実験実習「アフリカツメガエル細胞を使った細胞の培養」高校生と高校生物教員 2020年11月28日

### 計画班・平野

- ・講演「染色体のつくりかた:日米で研究室を主宰した経験を背景として」埼玉県高校理科教員研修(受講生約20名), 2021年8月(バーチャル、講演と研究室の案内)

### 計画班・岡田

- ・EMBO leadership course 2022年12月3日 東京(詳細は「9.若手研究者の育成に係る取組情報」参照)

### 公募班・横田

- ・ソフトマター物理からの生物へのアプローチ RIKEN iTHEMS のアウトリーチについての研究会 2022, 理学化学研究所 SUURI-COOL Kobe, 2022年7月30日

### 公募班・坂上

- ・青山学院大学相模原キャンパス理工学部オープンキャンパス「スネークパズルを使って考えるタンパク質折り畳み問題」(展示) 2021年7月11日, 2022年7月10日(大学での科学研究に関心のある高校生を対象に、タンパク質の折り畳み問題についての展示を行った)

### 公募班・Wong

- ・JST グローバルサイエンスキャンパス 全国受講生研究発表会 アカデミックセミナー「企画2 ウイルスの活動は見えるのか? ~百聞は一見に如かず」プレゼンター, 2021年10月17日(全国各地の大学等でGSCの研究活動に励む高校生が、異なる機関の受講生や教員と交流した)

### 公募班・西村

- ・2022年度京都大学サイエンス倶楽部デイ, 京都大学吉田キャンパス, 2022年11月21日

### 公募班・原裕貴

- ・高校生への生物実験体験イベント「やまぐちサイエンス・キャンプ」の講義・実験担当, 2023年6月10-11日(高校生がモデル生物を用いた実験を行い、得られた結果について議論を行った)

### 公募班・深川

- ・大阪大学 Seeds program 2021年度(高校生の自主研究の場の提供と実験指導)

### 公募班・落合

- ・広島大学 広島市立広島中等教育学校 出張授業, オンライン, 40名参加, 2021年9月9日
- ・フロムページ 夢ナビ 講義動画、みんな違ってそれでいい:細胞の個性を考える 2021年11月16日
- ・フロムページ 夢ナビライブ 2022 in Summer オンライン、みんな違ってそれでいい:細胞の個性を考える、質問対応・研究室訪問, 2022年7月9-10日



## 11 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

これまでの総括班経費の使用状況は、領域開始後約2年間にわたり、新型コロナウイルス感染症の影響により、開催予定であった学会や研究集会が延期された結果、繰越を余儀なくされてきたが、現在徐々に国際的な研究集会も再開され始め、若手の学会発表支援や、各種学会の共催が可能になってきた。主な使用状況を以下に記載する。（若手支援、女性支援については項目9に記載した）。

### 1) 共用機器の運用と国際研究拠点の設置

令和2年度及び令和3年度に一部繰越を行い、昨年度、これらの繰越分も含めて次世代シーケンサー、NextSeq1000を購入するために11,140千円を支出した。国際的な研究ネットワークの構築を促進するため、昨年度から白髭班を中心としてスウェーデンのカロリンスカ研究所に新たに研究拠点を作って日本から研究者を派遣しており、このシーケンサーは同研究所内に設置して運用している。カロリンスカ研究所はヨーロッパ最大の医科大学であり、ノーベル生理学・医学賞の選考委員会の所在地としても知られている。同研究所では、一流の研究者による国際的な研究環境の中で、創造性の向上を促すネットワークが形成されており、最先端の論文を数多く発表している。そこで本領域では、この拠点とシーケンサーを足がかりとして国際的な共同研究を今後進めていく計画である。実際に、本領域の岡田と深谷は昨年度、研究所を訪問して研究セミナーを開催し、その研究内容についてディスカッションを行なった。また、白髭と深谷は同研究所のBjörkegren教授をはじめとした複数の研究者達と既に国際的な共同研究を始めている。Björkegren教授はSMCタンパク質複合体の研究分野で世界をリードする研究者の一人である。特に酵母SMC5/6複合体についてはこれまでに多くの論文を発表しており、Björkegren教授の専門知識やアイデアは本領域においても非常に大きな後押しとなる。今後も次世代シーケンサーに関連した実験を中心として、本領域内の研究者とカロリンスカ研究所内外の研究グループとの国際的な共同研究を促進していく。そのために、今後は次世代シーケンサーに関連した消耗品費等として年間3,000千円を支出する予定である。さらに、本年9月にはカロリンスカ研究所にて本領域の国際班会議を行う予定である。

また、光ピンセットC-trapを用いたタンパク質-DNA相互作用の一分子観察実験のため、東大の定量生命科学研究所においてユーザー講習会を開催した。光ピンセットを用いたコヒーシとDNAの物性計測については、白髭班、西山班の共同研究を計画しており、他の本研究領域内研究班についても順次利用開始予定である。これら光ピンセット実験関連の材料合成に係る消耗品費として年間2,000千円を支出する予定である。

令和4年度末の領域代表の京都大学移籍に伴い、タンパク質精製と一分子解析の研究拠点が京都大学に移設され、総括班経費をこれにかかる拠点新設経費に充てた。タンパク質精製、定量、一分子解析の研究拠点は、広く領域班員に共有され、タンパク質精製から一分子解析に至る一連の流れを西山研究室で行う体制が整っている。

### 2) 学会共催

コロナ禍で現地開催の学会が極めて少ない状況であったが、これまでに学会共催12件（うち国際学会3件）を行った。

### 3) 広報活動と情報交換

ホームページを開設し、会議や本領域主催/共催セミナーの案内、求人、研究成果（論文発表やプレスリリース）等の情報を発信した。班員限定の情報交換・ディスカッションの場としてグループチャットを開設した。

その他、今後の総括班経費については当初の予定通り、若手支援、女性支援、班会議にかかる外部評価委員の旅費、学会共催費、シンポジウム開催費等に支出する予定である。

## 12 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させることを先導する」観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後実施する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

### A01: ゲノムモダリティの理論と基盤

A01-1 (高田班) では引き続き以下の4課題について研究を進める。(1) これまで開発したマルチスケール理論・方法を適用して、哺乳類ゲノムについて、染色体全体から近原子分解能まで接続した構造動態モデルを構築する(右図)。1ヌクレオソーム動態解析のデータ(A02-1 前島班との共同研究)、ヒストン動態(公募班・古川との共同研究)とマルチスケールに比較することでモデルを検証・改良する。また、DNA・タンパク質の協働性の理論化に取り組む(公募班・坂上との共同研究)。(2) バクテリア SMC タンパク質の DNA ループ押出の分子機構を高分解能で明らかにするとともに、コヒーシンについても解析を進める(A02-2 西山班との共同研究)。(3) (1) で開発したクロマチンモデルと、エンハンサ・プロモータ間のコミュニケーションを表現するモデルを連携させ、実験結果と比較する(公募班・落合との共同研究)。(4) (1) で開発したモデルをもとに、非典型的なクロマチン凝縮の物理的過程を解析する。

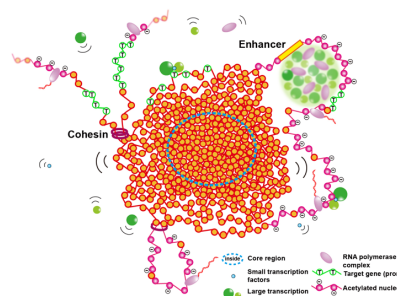
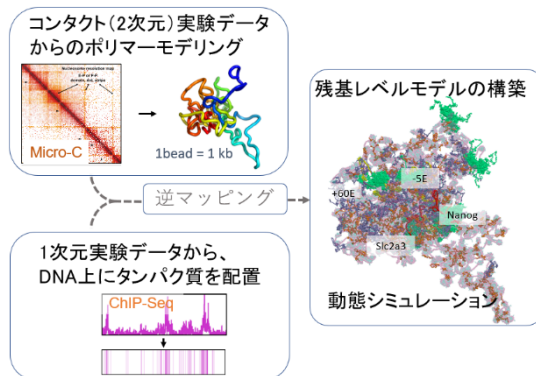
A01-2 (瀧ノ上班) では、今まで得られてきた成果である、ゲノム DNA/細胞核モデルの構築と DNA 物性の解明の研究を発展させ、よりクロマチン構造に近い構造やゲノムモダリティ制御因子を導入した現実に近いモデルによる DNA の構造物性や制御原理を目標として進める。特に、分担者鈴木らの細胞核モデルや、人工核膜孔を融合した細胞核モデルの構築も目指す(公募班・Wong との共同研究)。また、RNA 構造や DNA triple-helix によるゲル形成などの最近得られた知見を、実細胞内の制御に応用できる技術の構築を行う。また物理科学的なナノスケールの現象の根本的な理解を目指して、理論と実験の融合を加速していく(A01-1 高田班との共同研究)。

### A02: メゾスケールのゲノムモダリティ

A02-1 (前島班) では、これまでで開発された方法論、解析方法をもとに、前島・日比野らは、クロマチンドメイン構造や動態がどのように転写、DNA 複製、修復を制御しているかを明らかにする(公募班・新海、木村、原との共同研究)。さらにヌクレオソーム動態の観点から、エピゲノムとクロマチン動態との関係、さらに疾患細胞におけるクロマチン動態を通して、細胞機能不全の機構に迫る(A03-2 白髭班と共同研究)。分担者杉山らは、ヒストンテールを化学修飾した多様なヌクレオソームの配列化とタンパク質・酵素との相互作用、高次構造、その動態を AFM と Cryo-EM で可視化する。谷口はヒトゲノムの Hi-CO 解析開発を継続する。そして、実験で得られたさまざまなクロマチンのヌクレオソーム動態変化を公募班・新海や A01-1 高田班のモデリング、ケンブリッジ大学 Collepardo 教授のマルチスケールクロマチンモデリングに取り入れ、クロマチン物性変化の面から GMS 構築に貢献する。

A02-2 (西山班) では、コヒーシンによる DNA ループ押し出しメカニズムを、DNA 物性制御の観点から直接明らかにするため、コヒーシン複合体のリアルタイムの構造変化を分子内 FRET で明らかにし、DNA にかかる力と DNA ループ押し出し活性との関係を、光ピンセット C-Trap を用いて明らかにする(A03-2 白髭班との共同研究)。また上記で明らかにする物性制御要素が、脊椎動物の発生段階でどのように変化するかを、ツメガエル胚発生をモデルに検証する。特に、胚発生の時期に応じたクロマチン制御因子の変化と、予測されるクロマチン高次構造動態との対応関係を、Micro-C およびモデリングをベースに明らかに

#### ゲノムモダリティのマルチスケール理論



クロマチンドメインと転写装置

し（公募班・新海および A03-2 白髭班との共同研究）、GMS 構築に貢献する。

コヒーシンの作るメゾスケール構造と DNA 複製、損傷修復機構との関連を公募班・村山が、また核内ゲノム配置とメゾスケールゲノム構造の関連を明らかにする観点から、DNA 損傷部位の核内三次元配置同定を公募班・安原が担当する。

A02-3（平野班）では、コンデンシン I とトポイソメラーゼ II の協働メカニズムを一分子レベルで明らかにする。また野生型と変異型コンデンシン II のループ押し出し活性を測定し、それぞれに対応するコンデンシン I のループ押し出し活性と比較する（A02-2 西山班との共同研究）。また、コンデンシン II CAP-D3 サブユニット C-tail に、より短い領域を削った欠失型変異、及びより狭い領域の非リン酸化型変異を導入することにより、CAP-D3 C-tail によるコンデンシン II 活性の抑制メカニズムを解明する。分裂期染色体構築メカニズムの理論的なアプローチとして、特殊なクロマチン構造 sparkler の形成機序の理論を完成させ、論文化する（A01-1 高田班分担・山本との共同研究）。

分裂期染色体を構成するメゾスケール構造の理解を、複数の公募班が担当する。セントロメアと動原体の構造と、その微小管との相互作用機序を公募班・深川と田中が、また DNA のねじれを考慮した分裂期染色体構築の理論的アプローチを公募班・横田が担当する。非モデル系におけるアプローチとして、コンデンシンの古細菌オーソログの機能を公募班・竹俣が担当する。

### A03 : ゲノムモダリティの制御と疾患

A03-1（岡田班）では、精子クロマチンの局所構造を明らかにするため（目標 1）、PRM1:PRM2 比を変えた解析を HS-AFM で（公募班・Wong との共同研究）、人工小胞のサイズや小胞内環境を変化させる実験を A01-2 瀧ノ上班分担・鈴木との共同研究で行う。光ピンセット C-Trap を用いてヌクレオソームに PRM を加えてヒストン-PRM 置換が再現できるかを検討する。これらの実験はいずれも体内の精子形成や不妊を模倣した実験デザインである。メゾスケール試験管内精子エピゲノム改変は、今後改変するエピゲノム修飾の種類を増やし、顕微授精を施行する。次に、クロマチンの開閉と染色体核内配置との関連を明らかにするため（目標 2）、FISH や核膜 ChIP-seq によって検討する（公募班・前澤との共同研究）。PRM 欠損マウス精子や、PRM を持たないゼブラフィッシュ精子を解析に追加する。またこれまでの結果から、精子染色体配置に関係すると考えられる機能未知の構造物を得ており、その解析を遂行する。最後に DNA-プロタミン凝縮異常の定量化（目標 3）では、精子クロマチン凝縮におけるプロタミンの役割がナノスケールで制御されていることが示唆されたことから、この知見を目標 1 の *in vitro* 実験に還元し、PRM の分子間架橋と DNA 断片化との関連を明らかにする。

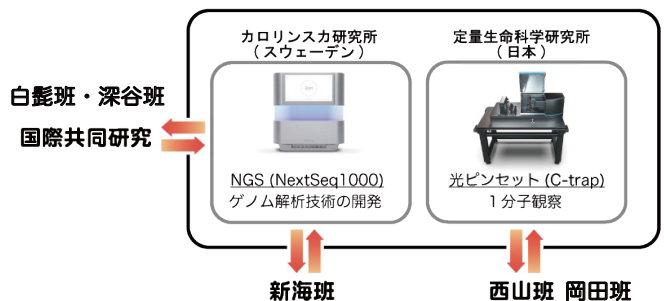
A03-2（白髭班）では、当初予定していた実験に加えて、本研究領域内及び国際的な共同研究も積極的に進めていく（下図）。同時に、公募班・新海と連携してコヒーシン病患者由来の細胞から得られたコンタクト情報についても 3D モデリングを行なっていく。また、C-Trap の実験についても、A02-2 西山班と連携していく。

また、転写と細胞分化、発生の観点から、転写調節領域の構造と動態を公募班・深谷と落合が、分化・発生の時間軸とクロマチン結合タンパク質変化のモデル化を公募班・前原が担当する。

#### 【国際ネットワークの構築】

国際的な研究ネットワークの構築のため、2022 年度に、スウェーデンのカロリンスカ研究所 (KI) に新たに研究拠点を作り、次世代シーケンサー、NextSeq を設置した。これを足がかりとして今後は国際的な共同研究を加速する計画であり、実際に A03-2 白髭班と公募班・深谷は KI の Björkegren 教授をはじめとした複数の研究者達と既に共同研究を始めて

いる（右図）。また、2023 年 9 月にはカロリンスカ研究所で、本領域主催の国際シンポジウム（領域班会議と合同）を開催予定であり、領域研究との関連が深い数名の海外研究者をゲストスピーカーとして招聘予定である。また、それ以外にも、A02-2 西山班、公募班・坂上、木村、Wong、深川が国際共同研究を行っており、公募班・深谷、前原がそれぞれ国際シンポジウムの開催を予定している。



## 13 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

本領域では、総括班に右表のとおり評価者を置いている。年に一度開催される領域会議に出席を依頼し、毎回、領域運営や研究方針などについて、評価を受け、それによって領域運営や会議運営等の見直しを行っている。

2022年11月21-23日に修善寺にて開催された領域会議には、Gasser 博士、古関博士、眞貝博士、笹井博士、Tanaka 博士、Uhlmann 博士が参加し、以下の評価を得た。原文は2頁を大幅に超過するため一部、指摘のあった部分を抜粋、添付する。

アドバイザー氏名	専門分野	所属
Susan Gasser	細胞生物学	(スイ) AGORA 癌研究センター
John Marko	理論生物学	(米) ノースウエスタン大・教授
Tomoyuki Tanaka	細胞生物学	(英) ダンディー大・教授
Frank Uhlmann	分子生物学	(英) クリック研究所・PI
伊藤武彦	ゲノム情報学	東京工業大学・教授
小川誠司	腫瘍生物学	京都大学・教授
古関明彦	分子生物学	理化学研究所・PI
笹井理生	理論生物物理学	名古屋大学・教授
眞貝洋一	分子生物学	理化学研究所・PI

### Summary for Genome Modality network activity meeting in 2022 and recommendation from the advisory board

The MEXT Genome Modality network (GMN) led by Prof. Tomoko Nishiyama of Nagoya University, was launched in 2020 and had its first in-person meeting of all associated PIs in Shuzenji, Shizuoka, on November 21 – 23, 2022. This meeting was held to summarize the activity of GMN in the first two years. At the same time, this was an opportunity to discuss how the next two years of the GMN could be operated.

In general, the GMN is skillfully organized to achieve the goal of understanding how physicochemical properties of super-polymeric DNA molecules synthesize to generate the highly complex biological properties of genomic DNA. To this end, the GMN is made up of individuals from a broad diversity of fields: mathematicians, physicists, soft matter chemists, modelers, and experimental molecular and cell biologists. All advisory members were impressed both by the quality of the respective studies in the GMN, which are yielding a number of publications already, and by the many intra-GMN interdisciplinary collaborations. These studies build bridges between fields that are usually separated. We realize that this success arises largely from the excellent leadership of Prof. Nishiyama and her supporting team, which includes both established and more junior PIs from the respective fields. We find many positive signs suggesting that the GMN is, and will continue to be, a highly successful network. The efforts made by the GMN members should be praised.

The GMN is very successfully operated by the steering team led by Prof. Nishiyama. Nonetheless, we came up with several recommendations that may improve their efficiency over the next two years. These are listed below:

1. In future meetings, it should be encouraged to have younger collaborators participate in retreats, and to have poster sessions and short “elevator pitch” talks (3 min each to bring attention to their posters). (Drs. Gasser, Tanaka, and Uhlmann)
2. It would be helpful to include titles, abstracts, and contributors’ names (Jokyos, post-docs, and post-graduate students in addition to PIs) for the talks in the program of the annual meeting. This will further facilitate communication, discussion and collaborations between Consortium members. (Drs. Gasser, Tanaka, and Uhlmann)
3. It is strongly recommended to have a round table meeting of the Consortium core members and the advisory board members at the next annual meeting (or in a separate online meeting) to help harness the insights of the board as the Consortium develops. (Dr. Tanaka)
4. The next associate member recruitment round should pay particular attention to the fact that junior researchers and female researchers have been under-represented so far, and need support if the GCN are to secure a thriving future for Japanese science. (Drs. Uhlmann and Tanaka)

### Remarks from individual advisory members

**Prof. Susan M Gasser PhD. (Agora Institute, Switzerland)**

After nearly three years the MEXT Genome Modality network had its first meeting of all associated PIs. There were two days of presentations and participants were highly interactive and engaged in Q&A sessions. There is a great collaborative spirit and willingness to share knowledge and technologies among the members of this consortium. The atmosphere was one of sharing and mutual excitement. The quality of results presented was very high. These are all good indicators that Genome Modalities will be a highly successful network.

Furthermore, the Genome Modality network is skillfully led by a young woman professor, Tomoko Nishiyama of Nagoya University; her dedicated leadership, which has no hint of self-promotion or self-interest, is noteworthy. Her excellent leadership should be praised and used as a model for future network organizers. Although finances may have been limiting this time, we encourage younger collaborators to participate in such retreats, and to organize poster sessions and short “elevator pitch” talks sessions (outline for elevator pitch: 3 min each speaker with 2-3 slides, to bring attention to their posters) in future meetings. Such retreats could take place with or without the lab heads.

#### **Frank Uhlman (The Crick Institute, UK)**

1. The next associate member recruitment round should pay particular attention to the fact that junior researchers and female researchers need support if we want to secure a thriving future for Japanese science.
2. While most of the presented science was of outstanding quality, there were rare exceptions of weaker scientific projects. Scientific quality should be a key criterium when selecting the next associate members.
3. The network meetings, including domestic and international advisors, are great opportunities to involve junior researchers from both core and associate laboratories. A poster session by junior researchers would add to the vibrant atmosphere and maximise the opportunity for the advisors to engage and provide guidance.

#### **Tomoyuki Tanaka, (University of Dundee, UK)**

The Consortium continues to address important and timely topics in the molecular basis of genome structure and function, including the organization of chromosomes, regulation of gene expression, and mechanisms of relevant diseases. A major strength of the Consortium is its multidisciplinary approaches – the groups in the Consortium have different expertise, encompassing advanced microscopy, single molecule analyses, biophysical approaches, and computational modeling. Close collaborations between such groups are driving highly competitive research.

#### **Haruhiko Koseki (RIKEN, Japan)**

“Genome Modality” network (GMN) is challenging to understand how and to which extents physicochemical properties of super-polymeric DNA molecules contributes to synthesize highly complex biological properties of genome DNA. As this challenge requires the powers of not only biologists but also physicists and chemists, talented scientists from diverse fields were gathered under the abovementioned single theme. I am very impressed by the collection of top scientists from very diverse fields involving rheology, soft matter sciences, mathematical modeling, data sciences, biochemistry, structural biology, high-end imaging, ecology, medical sciences and even more and sharing the single theme. To facilitate unification of different discipline, more than several mathematics-based scientists are involved, who are connected with experimental scientists by data to some extents. The GMN is also setting up the common data platform in the University of Tokyo to facilitate sharing the data from various layers and technologies. Such multi-disciplinary nature of the GMN is well organized under the leadership of Dr. Nishiyama, who is also well supported by her executive team composed of well experienced scientists such as Drs. Hirano, Shirahige, Okada and Takada. I believe it is critically important to maintain this kind of mechanisms, in which scientists from different fields can meet each other and share a question and resources to solve complex issues. Such mechanisms will lead to the foundation of new interdisciplinary research fields in near future.

#### **Yoichi Shinkai (RIKEN, Japan)**

I was very much impressed with the research results reported, many of which were novel, impactful, and highly original. 3. The questions from the advisors, especially from prominent researchers from overseas, must have been very stimulating for the young researchers including post-doc and Ph.D. students. It was also good that all presentations were given in English. As for research item A03, I was only impressed with the research for cohesin, aneuploidy, sperm genome, and plant mitochondria (?). I felt that the 2 more years of activities should strengthen a little more on A03 subject.