

領域略称名：クロマチン動構造  
領域番号：3506

平成27年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「動的クロマチン構造と機能」

(領域設定期間)

平成25年度～平成29年度

平成27年6月

領域代表者 (早稲田大学・理工学術院・教授・胡桃坂 仁志)

# 目 次

## 研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	5
2. 研究の進展状況	7
3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況	11
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	13
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	17
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	24
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	26
8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	28
9. 総括班評価者による評価	29
10. 今後の研究領域の推進方策	31

## 研究組織

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成 員数
X00	25116001 動的クロマチン構造と機能	平成25年度 ～ 平成29年度	胡桃坂 仁志	早稲田大学・理工学術院・教授	10
A01 計	25116002 再構成ヌクレオソームを用いた動的クロマチン構造の解明	平成25年度 ～ 平成29年度	胡桃坂 仁志	早稲田大学・理工学術院・教授	2
A01 計	25116003 シミュレーション計算による動的クロマチンのダイナミクス解析	平成25年度 ～ 平成29年度	河野 秀俊	日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究センター・グループリーダー	1
A01 計	25116004 ヘテロクロマチンの構造と機能の理解	平成25年度 ～ 平成29年度	小布施 力史	北海道大学・先端生命科学研究科(研究院)・教授	1
A01 計	25116005 計測と再構築による生細胞内クロマチンダイナミクスの高次元	平成25年度 ～ 平成29年度	木村 宏	東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授	2
A01 計	25116006 クロマチン機能を保証する核膜の構造と分子基盤	平成25年度 ～ 平成29年度	原口 徳子	国立研究開発法人情報通信研究機構・未来ICT研究所・主任研究員	2
A01 計	25116007 1分子in vivoイメージング超解像ナノ解析によるクロマチン動作原理解明	平成25年度 ～ 平成29年度	徳永 万喜洋	東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授	2
A01 計	25116008 核膜孔複合体構成因子・核輸送因子によるクロマチン動態制御の解明	平成25年度 ～ 平成29年度	米田 悦啓	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・研究所長	3
A01 計	25116009 核内構造体とのインタープレイによるクロマチン動構造の制御	平成25年度 ～ 平成29年度	斉藤 典子	熊本大学・発生医学研究所・准教授	2
A01 計	25116010 細胞分化にともなうクロマチン変動メカニズムの解明	平成25年度 ～ 平成29年度	大川 恭行	九州大学・医学研究院・准教授	1
計画研究 計10件					
A01 公	26116501 ヘテロクロマチン結合複合体によるゲノム安定性の動的制御	平成26年度 ～ 平成27年度	田中 耕三	東北大学・加齢医学研究所・教授	6

A01 公	26116502 ニューロンにおける細胞核構造と遺伝子発現における核ラミナの意義	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	滝沢 琢己	群馬大学大学院医学系研究科・小児科学分野・准教授	1
A01 公	26116504 マイクロ流体デバイスを用いたゲノムサイズクロマチンの高次構造変化実時間観察	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	小穴 英廣	東京大学・大学院工学系研究科・准教授	1
A01 公	26116505 マウス卵割期胚におけるNC比制御と核形態・クロマチン状態変化の解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	大杉 美穂	東京大学・総合文化研究科・准教授	1
A01 公	26116508 核膜アンカーに依存したセントロメアクロマチン制御機構の解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	松本 智裕	京都大学・放射線生物研究センター・教授	2
A01 公	26116509 CV-SANS法による変異型ヌクレオソームの詳細構造解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	杉山 正明	京都大学・原子炉実験所・教授	1
A01 公	26116511 相同染色体対合に必要な非コードRNAが動的クロマチン構造と相互作用する仕組み	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	平岡 泰	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A01 公	26116513 転写と共役したクロマチン初期化制御の解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	加藤 太陽	島根大学・医学部・助教	2
A01 公	26116514 ゲノム修復における動的クロマチン構造変換	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	田代 聡	広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授	2
A01 公	26116515 長鎖ノンコーディングRNAのクロマチンターゲット	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	佐渡 敬	近畿大学・農学部・教授	1
A01 公	26116516 新規エピゲノム分析によるクロマチン変異の解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	甲斐 雅亮	長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・教授	3
A01 公	26116517 血液細胞分化におけるクロマチン動構造の研究	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	斉藤 寿仁	熊本大学・大学院・自然科学研究科・教授	1
A01 公	26116518 ノンコーディングRNA転写と共役したクロマチン構造変化の制御機構の解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	廣田 耕志	首都大学東京・理工学研究科・教授	1
A01 公	26116519 X線小角散乱を用いた再構成クロマチンの動的構造解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	小田 隆	横浜市立大学・大学院生命医科学研究科・特任助教	1

A01 公	26116521 ヌクレオソームの多様な 構造を解析する技術の 開発	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	香川 亘	明星大学・理工学部・准教授	1
A01 公	26116522 DNA複製フォークでの クロマチン構造維持機 構	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	荒木 弘之	国立遺伝学研究所・細胞遺伝研 究系・教授	2
A01 公	26116523 セントロメア・クロマチン の動構造の分子基盤と 意義	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	広田 亨	公益財団法人がん研究会がん研 究所・実験病理部・部長	1
A01 公	26116525 分裂期染色体凝縮にお けるコアヒストン・ヌクレ オソームの役割	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	新富 圭史	国立研究開発法人理化学研究所・ 平野染色体ダイナミクス研究室・研究 員	1
A01 公	26116526 核膜孔複合体と輸送運 搬体によるimportin輸 送制御：細胞核機能か ら高次生命へ	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	今本 尚子	国立研究開発法人理化学研究所・ 今本細胞核機能研究室・主任研究 員	1
公募研究 計 19 件					

# 研究領域全体に係る事項

## 1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

### 研究の学術的背景

真核生物のゲノムDNAは、タンパク質やRNAと結合した“クロマチン”と呼ばれる分子複合体として、細胞核内に存在している。ヒト細胞核はおよそ10マイクロメートルの直径の球体であり、この微小空間に、長さ2メートルにも及ぶゲノムDNAが収納されている。ヌクレオソームはヒストン8量体に二重鎖DNAが巻き付いた構造体で、クロマチンの基盤となる繰り返し構造ユニットである。ヌクレオソームの形成はゲノムDNAを1/5にまで凝縮させるが、それでもなお40センチメートルにも及ぶ。このことは、単にヌクレオソームによる折りたたみだけでは、ゲノムDNAの細胞核への収納を説明することはできないことを示している。

ヌクレオソームは単体で非常に安定であり、さらに高度に折り畳まれたクロマチンからDNAがほどけるためには、信じられないほどの大きなエネルギーが必要であることが、シミュレーションや1分子解析などの研究によって分かってきた。しかし生物はクロマチンにおいて、このような大きなエネルギー障壁が無いかのように、DNAの複製・転写・組換えを行っている。この事実は、クロマチン構造が、低エネルギーで動的に変換しうる性質を持つためと考えられるが、その詳細は全く不明であり、DNA生物学の最大の謎となっている。

1997年にアフリカツメガエルのヌクレオソーム構造(Luger *et al*, *Nature*)が、原子分解能で発表された。

2005年には我が国でもヒトのヌクレオソーム構造(Tsunaka *et al*, *Nucleic Acids Res*)が発表され、これらの先駆的研究がクロマチン構造研究の基礎となった。しかし、クロマチンにおけるDNA機能制御では、単一なヌクレオソーム構造ではなく、多種類のヒストンバリエントや化学修飾によるヌクレオソームの多様性が生み出す“動的クロマチン構造”が中心的な役割を果たすと考えられている(図1)。領域代表である胡桃坂は、いち早くこの問題に取り組み、これまでにバリエントや変異ヌクレオソームの立体構造解析を60種類以上成し遂げた。代表例として、2010年にはヒト精巣特異的なヒストンH3Tを含むヌクレオソーム(Tachiwana, Kurumizaka *et al*, *PNAS*)、2011年にはセントロメア特異的CENP-Aヌクレオソームの構造解明に世界で初めて

成功した(Tachiwana, Kurumizaka *et al*, *Nature*)。しかし、バリエントや翻訳後修飾によるヌクレオソーム構造やその並び方の多様性、タンパク質やRNA分子複合体との相互作用などによって構築される“動的クロマチン構造”の実体はいまだ不明である。

これまでのヌクレオソーム構造の解析研究を通して、特異的なヒストンバリエントを含むヌクレオソームは、特徴的な構造と安定性を有することが分かってきた。加えて、ヌクレオソームの不安定性が、特定のヒストン修飾を含むヌクレオソームにおいても観察された。これらの事実から、領域代表者は、ヒストンバリエントや修飾を有するヌクレオソームの構造と安定性、そしてそれらの並び順、の多様性こそが、ゲノムDNAの転写・複製・組換えの諸反応を制御する“動的クロマチン構造”の本体であると着想した。

そこで本研究では、ヒストンバリエントと修飾、クロマチン相互作用因子、核内構造体などが織りなす、**生命現象を司るクロマチン構造とその動態の実体**を明らかにすることを目的とする。構造生物学、シミュレーション、生細胞・超解像イメージング、オミクス解析、画像解析、細胞・発生生物学、遺伝学など多岐に渡る手法を結集して、いまだブラックボックスであるクロマチン構造と、それを動的に制御する因子や機構を明らかにす

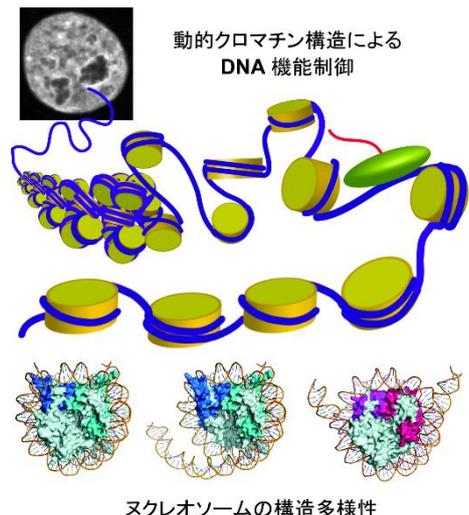


図1：細胞核における動的クロマチン構造

る。そして、真核生物が DNA を遺伝情報として利用する仕組みについて新しい概念を創出し、動的クロマチン構造の実体を明らかにすることで広範な生命機能現象と多くの疾病のメカニズムの理解を目指す。

### **我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域である点**

本領域は、独自技術を持った研究者が結集した共同研究を基軸として、動的クロマチン構造研究を多岐に渡る手法によって推進するものである。したがって、応募内容の「多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの」に該当する。また、動的クロマチンによる DNA 機能制御機構の解明がなされれば、遺伝子発現操作技術の開発につながると考えられる。同時に、すべての真核生物でのゲノム DNA 機能の制御研究の基盤情報を提供することにもなるため、「当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすもの」にも該当する。実際、クロマチンタンパク質やヒストンの変異や過剰発現ががんや遺伝病などの疾患の要因となりうることが知られており、それらを標的とした創薬も展開されている。この重要性ゆえに国際的な競争が激化しており、我が国において高い国際競争力を持つ研究チーム編成が急務となっている。このように、動的クロマチン構造と機能の研究は、がんや遺伝病などの遺伝子疾患の原因解明と治療イノベーションにおいても重要である。

本領域の中心的な研究対象の1つであるヒストンバリエントは、近年急速に世界的に注目されつつあり、その重要性から 2014 年 6 月 2 日～4 日の日程で、フランスのストラズブールにて第 2 回 EMBO Workshop Histone Variant が行われた。領域代表者の胡桃坂は、我が国からの唯一の招待講演者として本会議に参加した。このような国際的な潮流の中、我が国のヒストンバリエント研究を充実させ、世界的な研究成果を発信することは、我が国の学術水準の向上・強化に重要である。我が国においても本領域の研究者を中心に“ヒストンバリエント研究会”を発足し、これまで 2 回の研究会を九州大学(2014 年)と東京工業大学(2015 年)にて開催した。

クロマチンは、DNA 機能の根幹をなす構造である。かつて DNA の二重らせん構造の発見が現代生命科学の基礎となったように、クロマチンの動的構造制御と機能の解明は、転写・複製・組換えなど、生物が DNA を遺伝情報として利用する仕組みについて、新しい概念を創出するものと確信している。実際に真核生物では、遺伝子の発現・維持・継承のいずれもが、DNA の配列情報のみでは制御されておらず、クロマチンの構造とダイナミクス、そして核内構造体との相互作用によってなされている。本領域では、クロマチンの分子構造解析・シミュレーション、生細胞・1分子イメージング、プロテオミクス・ゲノミクス、核構造との相互作用を研究する第一線の研究者が一堂に会し、共同研究を通して新たな展開を産み出すべく組織している。これにより、当該分野における我が国の科学技術を、世界のトップに押し上げるチャンスを提供できると考えている。

クロマチン構造は、DNA 配列に依存しない遺伝子機能制御の基盤として、エピジェネティクス研究分野を中心に発展してきた。これまでにヒストンや DNA の化学修飾による遺伝子発現調節機構については、国際的にも多くの研究がなされている。そして近年、ヒストンバリエントの重要性が注目されてきた。しかし、これらのヒストンバリエントやヒストン修飾によるクロマチン本体の構造と動的性質の多様性や、クロマチン結合因子や核内構造体との相互作用に着目した研究は限られていた。本領域は、「動的クロマチン構造と機能」という独自の視点から世界をリードするクロマチン研究拠点として、当該分野に革新的な知見をもたらす高い学術貢献と、若手研究者の発掘と育成に中心的な役割を果たすものである。

## 2. 研究の進展状況 [設定目的に照らし、研究項目又は計画研究ごとに整理する] (3 ページ程度)

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在までにどこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究ごとに記述してください。

### 期間内の達成目標

本領域は、生命現象を司るクロマチン構造とその動態を明らかにすることを目的に、多様な視点と手法を持つ研究者が結集し、生命現象の理解に新しい概念を打ち立てることを目指すものである。期間内の達成目標としては、以下の通りである。(1)多数発見されたヒストンバリエントや翻訳後修飾ヒストンにより構成される多様なヌクレオソームの構造と動態を、生化学・構造生物学的解析や1分子超解像解析などによって明らかにする。(2)得られた多様なヌクレオソームの構造情報に基づいて、シミュレーションによってクロマチンの構造ダイナミクスを可視化する。(3)ヒストンバリエントやヒストン修飾の高次生命機能における役割を、ノックアウトマウスやノックアウト細胞を用いた遺伝学的解析によって行う。(4)核膜・核膜孔複合体や RNA ボディーなどの核内構造体によるクロマチン機能制御機構を、再構成クロマチンを用いた生化学的解析、ゲノミクスやプロテオミクス解析、生細胞イメージング解析などによって解明する。(5)プロテオミクス・ゲノミクスを中心にヘテロクロマチンやセントロメアなどのクロマチンドメイン形成機構の解析を行う。(6)クロマチンの動構造と機能発現や疾病との関係を、原子から細胞・個体レベルまでの階層をシームレスにつないで明らかにする。

### 研究の進展状況

応募時に研究領域として設定した研究対象は、以下の2つである。

(1) 多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの：これに該当する研究成果については、下記の計画研究毎の進展状況内に「領域研究対象(1)」と記載。

(4) 当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすもの：これに該当する研究成果については、同様に「領域研究対象(4)」と記載。

(1)に関して、本領域では、再構成ヌクレオソーム、シミュレーション、プロテオミクス、ライブセルイメージング、1分子超解像イメージング、遺伝学、ゲノム解析、核構造解析など、先進的かつ多様な手法を持つ研究者が集結し、共同研究を展開することによって、本領域にブレークスルーをもたらす成果をいくつも出している。現在までに、計画研究から120報、公募研究から42報、計162報の論文として発表されており、うち33報が領域内共同研究の成果である。これは、多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究が、本領域の展開を推進してきたことを強く示している。(4)に関して、本領域で調製した再構成ヌクレオソームや抗体は、他の研究領域でも活用されて成果を生んでいる(25、26年度の試料分与件数:計40件以上)。また、FabLEM法、mintbody法、LiveCLEM法などのライブセルイメージング法や1分子超解像イメージング法は、広汎な研究領域で利用可能な方法であり、他の研究領域の発展にも寄与する。加えて、9件(計画研究7件、公募研究2件)のプレスリリースを行い、多くのメディアに取り上げられたことは、専門外の研究者や一般社会への波及効果が大きいことを示している。以下に、具体的な研究例について述べる。

### 研究計画毎の進展状況

#### 計画研究1「再構成ヌクレオソームを用いた動的クロマチン構造の解明」

研究代表者:胡桃坂仁志(早稲田大)、研究分担者:堀哲也(大阪大)

胡桃坂は、領域発足以来30種類以上のヌクレオソーム構造のX線結晶構造解析を成し遂げ、現時点ですでに計65種類の多様なヌクレオソーム構造の解析を完了している(Iwasaki, Kurumizaka et al, *FEBS Open Bio*, 2013; Horikoshi, Kurumizaka et al, *Acta Cryst. D.*, 2013; Urahama, Kurumizaka et al, *Acta Cryst. F.*, 2014等)。このことによって、多種多様なヒストンを含むヌクレオソームの構造情報が得られ、さまざまな分野において、多様な再構成クロマチンを使用した研究がスタートした「領域研究対象(4)」。結晶化が困難なヌクレオソームやポリヌクレオソームの構造解析については、小田や杉山との共同研究によりX線小角散乱法や中性子散乱法などの溶液構造解析を行った(Arimura, Oda, Sugiyama, Kurumizaka et al, *Sci. Rep.*, 2013; Sugiyama, Oda, Kurumizaka et al, *Biophys. J.*, 2014)。また、河野と共同でヌクレオソームの構造ダイナミクスを分子シミュレーション解析によって検討した(Kono, Kurumizaka et al, *PLoS One*, 2015)。さらに、様々な翻訳後修飾を含むヒストンを作製する方法を確立し、部位特異的にメチル化及びクロトニル化されたヒストン H3

を含むヌクレオソームの構造解析に成功した。また、ヒストンシャペロン tNASP が、H3.3 特異的な活性を有することを示した(Kato, Kurumizaka et al, *Biochemistry*, 2015)。これらの生化学的・構造生物学的解析に加えて、胡桃坂は、原口と共同し、再構成ヌクレオソームをマイクロインジェクションで細胞内へ導入し、その動態を解析した。その結果、核膜に似た膜構造が形成されることを発見した。また、徳永と共同し、生細胞内でのヒストンバリエーションの動態を1分子計測することに成功した。

セントロメアクロマチンの形成機構に関して、胡桃坂は、CENP-A が中央に配置するトリヌクレオソーム(H3-CENP-A-H3)を高純度で調製し、X線小角散乱や電子顕微鏡により構造解析を行い、河野と共同で顕微鏡画像に適合する3次元構造モデルを構築した(詳細は、河野の欄を参照)。また、CENP-BとCENP-Aヌクレオソームとの結合様式の解析を行い、両者間に特異的な結合があることを明らかにした(Fujita, Kurumizaka et al, *Nucleic Acids Res*, 2015)。CENP-A/H3.3 ハイブリッドヌクレオソームの細胞内局在解析(Lacoste, Kurumizaka et al, *Mol. Cell*, 2014)と、香川と共同してその立体構造解析に成功した(Arimura, Kagawa, Kurumizaka et al, *Sci. Rep.*, 2014)。堀は、胡桃坂と共同で、ヒストン様構造を形成するCENP-T-W-S-X ヘテロ 4 量体が正のスーパーコイルを導入する活性をもつことを見いだした(Takeuchi, Hori, Kurumizaka et al, *Nucleic Acids Res*, 2014)。また、堀は木村と共同し、網羅的なChIP-seq解析によりセントロメア領域特異的にヒストン H4K20 モノメチル化修飾が集積していることを発見し、このメチル化が機能的なセントロメア形成の分子スイッチとして機能するというモデルを提案した(Hori, Kimura et al, *Dev. Cell*, 2014, 掲載誌の表紙を飾る成果)。これらの成果は、多様な手法をもつ研究者が集結してはじめて得られたものであり、動的なクロマチン構造と機能の解明に向け、新たな視点を与えるものである[領域研究対象(1)]。

#### 計画研究2「シミュレーション計算による動的クロマチンのダイナミクス解析」

研究代表者：河野秀俊(日本原子力研究開発機構)

河野は、計算科学的なアプローチにより、種々のヒストンバリエーションから構成されるヌクレオソームやそれらが繋がったポリヌクレオソーム及び化学修飾を受けたヌクレオソームについてシミュレーション計算を実施し、実験的には捉えることが困難な、ナノ秒からミリ秒の原子、分子のダイナミクス解析を行った。胡桃坂と共同し、ヒストン H3 バリエーション CENP-A を含むヌクレオソームにおける DNA の不安定性が、2つのアミノ酸残基の違いで生じることを、シミュレーション及び実験により明らかにした(Kono, Kurumizaka et al, *PLoS One*, 2015)。また、基準振動解析計算を使って、電子顕微鏡で得られたトリヌクレオソーム画像を再現する原子モデルを構築した。H3-CENP-A-H3 トリヌクレオソームの構造を解析し、CENP-A ヌクレオソームが入ることによって、両端が開いたセントロメア特有のヌクレオソーム構造を作るという結果が得られた(論文準備中)。この成果は、多様な手法をもつ研究者が集結してはじめて得られたもので、動原体の構造形成メカニズムの解明に向け、新たな視点を与えるものである[領域研究対象(1)]。現在、大川により発見されたマウスの新規 H3 バリエーションについても構造予測を行い、再構成実験により予測の検証を行っている。

#### 計画研究3「ヘテロクロマチンの構造と機能の理解」

研究代表者：小布施力史(北海道大)

小布施は、ヘテロクロマチンの構造と機能を理解するために、H3K27あるいはH3K9のメチル化酵素であるPRC2、G9aについて、新規相互作用因子を発見し、その情報を元に網羅的な相互作用解析を行った。その結果、PRC2、G9a複合体ともに、活性を持つコア複合体に対して、それぞれ特定のタンパク質が結合することにより、PRC2は少なくとも7種類、G9a複合体は少なくとも3種類のバリエーションを創出していることが明らかとなった。これらG9a-PRC2複合体は、ヒストン修飾を中心としたエピゲノムの維持・転換メカニズムを理解するための重要な基盤構造のひとつであると考えられる。現在、それぞれの複合体の活性や細胞内での機能の特異性を明らかにするために、胡桃坂、木村と共同して、再構成クロマチンとイメージングを用いた定量解析を行っている。また、佐渡と共同して、ヒストン修飾やヘテロクロマチン高次構造形成に関わるタンパク質を、アリルを分けて局在解析できるChIP-seqとRNA-seqの解析技術を確立した。これらの新技術は、小布施がこれまで培ってきた網羅的な複合体解析と合わせて他分野の研究に対しても大きく貢献するものである[領域研究対象(4)]。さらに、独自に進めてきたHP1結合因子の相互作用ネットワークを解明することで、ヘテロクロ

マチン構造構築の普遍的な原理の解明を行っている。

#### 計画研究4「計測と再構築による生細胞内クロマチンダイナミクスの高次元的理解」

研究代表者:木村宏(東京工大)、研究分担者:山縣一夫(近畿大)

木村は、徳永、大川と共同し、独自に開発した FabLEM 法を用いた翻訳後修飾の生細胞動態解析と ChIP-seq 解析などを組み合わせて、転写活性化過程におけるヒストン H3K27 アセチル化の機能を明らかにした(Stasevich, Ohkawa, Tokunaga, Kimura et al, *Nature*, 2014)。また、木村は、山縣、胡桃坂、小布施と共同して、マウスやゼブラフィッシュなど広範囲な生物で使えるヒストン修飾可視化プローブ mintbody を開発した(Sato, Yamagata, Kurumizaka, Obuse, Kimura et al, *Sci Rep.*, 2013)。さらに、山縣と共同して、H4K20me1-mintbody を発現するノックインマウスを作製し、不活性X染色体の形成過程に関する新規の知見を得ている。山縣は、木村、大川との共同研究により DNA メチル化検出プローブを発現するマウスや胚性幹細胞を作製し、発生や分化に伴うヘテロクロマチンの構造形成機構を明らかにした(Ueda, Kimura, Ohkawa, Yamagata et al, *Stem Cell Reports*, 2013)。さらに、大川により発見された H3mmT バリエントのノックアウトマウスを作製し、H3mmT が精子形成に必須な役割を果たすことを明らかにした。これらの成果は、生細胞計測、エピゲノム解析、構造解析などを領域内で融合することで、はじめて成し得た成果である[領域研究対象(1)]。また、木村と山縣が開発したプローブや発現動物は、エピジェネティクスや発生・再生分野など他分野に対しても大きく貢献するものである[領域研究対象(4)]。

#### 計画研究5「クロマチン機能を保証する核膜の構造と分子基盤」

研究代表者:原口徳子(情報通信研)、研究分担者:浅川東彦(大阪大)

原口は、平岡と共同し、DNA を結合したビーズ(DNA ビーズ)を生きた細胞に導入するという新規の方法と独自のライブセルイメージングを使って、ビーズ周辺で誘導される核膜構造を解析し、DNA ビーズがエンドソーム膜を破って、細胞質に入った瞬間を捉えることに成功した。DNAビーズは、細胞質に入った直後(秒のオーダーで)クロマチンタンパク質 BAF と結合し、BAF の働きにより、ビーズ周辺に“核膜様の膜構造”が形成されること、それによってオートファジーが抑制されることが分かった(Kobayashi, Hiraoka, Haraguchi et al, *PNAS*, 2015)。この成果は、薬剤・遺伝子デリバリー分野や、ウイルス感染に伴う免疫応答分野など他分野にも貢献するものである[領域研究対象(4)]。原口と浅川は、徳永と共同し、分裂酵母の核膜孔複合体を構築する全タンパク質を解明した(Asakawa, Tokunaga, Haraguchi et al, *Nucleus*, 2014, 表紙を飾る成果)。原口と浅川は、平岡と共同し、Nup132 が減数分裂期セントロメア機能に重要な役割があることを明らかにした(Yang, Asakawa, Haraguchi, Hiraoka et al, 投稿中)。これらの成果は、遺伝学、ライブセルイメージング、1分子イメージングを駆使して得られたものであり、[領域研究対象(1)]に該当する。

#### 計画研究6「1分子 in vivo イメージング超解像ナノ解析によるクロマチン動作原理解明」

研究代表者:徳永万喜洋(東京工大)

超解像イメージングの大きな国際的潮流が起こっているが、従来法ではリアルタイム性・生細胞観察との両立に難があった。徳永は、この問題を克服し「動的クロマチン構造の解明」に新手法を展開した。(1)1分子イメージング技術を用い、生きた細胞で、リアルタイムで多色イメージングできる超解像解析技術(10nm オーダー)を構築した。また、時間変動・多色間位置ずれを克服した多色超解像ナノ解析・定量化法を開発した。(2)木村と共同し、1分子超解像軌跡追跡と FRAP 法を融合した方法でヌクレオソーム動態を解析し、新しい描像を得た。(3)胡桃坂、木村、大川と共同し、ヒストンバリエントを GFP 標識した生細胞で、1分子観察と FRAP 法によりその動態を解析した。(4)原田、木村と共同し、Arp4・Arp8・Ino80 のクロマチンリモデリングタンパク質とヌクレオソーム相互作用動態に関する新しい描像を得た。(5)ヌクレオソーム構造を高精度超解像解析するために、脂質二重膜構築法を開発した(Ito, Tokunaga et al, *Anal. Sci.*, 2014)。これによって、流動性を確保しつつ、簡単に基板上に分子・細胞を保持することができる。胡桃坂、木村と共同して、ヌクレオソーム構造変化を 10nm 超の高精度でリアルタイム解析している。以上は、新しい技術を共同研究に推進して新たな展開を計るものである[領域研究対象(1)]。また、開発した超解像顕微鏡法は、他の研究領域への大きな波及効果

が期待される[領域研究対象(4)]。

#### 計画研究7「核膜孔複合体構成因子・核輸送因子によるクロマチン動態制御の解明」

研究代表者:米田悦啓(医薬基盤・健康・栄養研)、研究分担者:安原徳子(医薬基盤・健康・栄養研)、岡正啓(医薬基盤・健康・栄養研)

米田は、核構造レベルの研究を担当し、核膜孔構成因子・核輸送因子—クロマチン間の機能的相互作用、クロマチン制御因子と核輸送因子の機能的連携の2点を対象に研究を進めている。米田と岡は、小布施と共同して、importin  $\alpha$  が遺伝子のサイレンシングに関わる TRIM28 への結合を介してクロマチン制御因子として機能する可能性を示した(Moriyama, Obuse, Oka, Yoneda et al, *Biochem Biophys Res Commun*, 2015)。さらに、小布施と共同で、importin  $\alpha$  が細胞老化に関わるコアヒストン結合因子 RBBP4 と結合することで、その核輸送を制御し、細胞老化を調節することを明らかにした。また、大川、木村と共同し、白血病病因因子 Nup98-HoxA9 が特定のクロマチン領域に結合し、核外輸送因子 Crm1 と協調的に局所的な遺伝子発現を活性化することを明らかにした。米田と安原は、大川、胡桃坂、木村、斉藤と共同し、細胞分化や癌形成に関わる核輸送因子 importin  $\alpha 1$  が特定のクロマチン領域に結合して遺伝子発現に働くことを明らかにした。これらの成果は、異なる手法や、分子から個体まで様々な階層を対象とする研究者と共同することで達成されたものである[領域研究対象(1)]。これらの研究で、核輸送ネットワークとクロマチンの相互作用の実体を明らかにしつつある。また、白血病の発症機構への核膜孔蛋白質と転写因子の融合がもたらすメカニズムを明らかにすることで、診断や創薬にもつながると考えられる[領域研究対象(4)]。

#### 計画研究8「核内構造体とのインタープレイによるクロマチン動構造の制御」

研究代表者:斉藤典子(熊本大)、研究分担者:原田昌彦(東北大)

斉藤は、動的クロマチン構造の制御のしくみを理解するために、クロマチン制御に働く核内構造体因子(I/F因子)を同定し、作動メカニズムを解析、細胞や個体の機能との関連を検討した。機械学習を用いた画像解析技術を確立し(Tokunaga, Saitoh et al, *Sci. Rep.*, 2014)、核内構造体の形成に関わる新規 I/F 因子を同定した。また、大川と共同し、乳がんの再発過程で、核内 RNA クラウドという構造体を形成する非コード RNA(エレノアと命名)を同定し、エレノアがつくる核構造は、乳がん再発と密接に関連することを明らかにした(Tomita, Ohkawa, Saitoh et al, *Nat Commun*, 2015)。原田は、既知の I/F 因子である核内アクチン関連タンパク質ファミリーの機能解析を行い、徳永、胡桃坂、木村、田代と共同し、DNA 転写や修復の制御、遺伝子初期化に関わることを明らかにした(Yamazaki, Harata et al, *Biosci Biotechnol Biochem*, 2015; Osakabe, Kurumizaka, Harata et al, *PLoS One*, 2014; Nishibuchi, Harata, Tashiro et al, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014)。これらの成果は、多様な研究者による新たな視点・手法による共同研究によって実現したものであり、該当領域の新たな展開に貢献した[領域研究対象(1)]。また、ゲノクス、DNA 損傷修復、RNA 学、医科学などの他の研究領域の発展に波及効果をもたらしている[領域研究対象(4)]。

#### 計画研究9「細胞分化にともなうクロマチン変動メカニズムの解明」

研究代表者:大川恭行(九州大)

大川は、ヒストン H3.3 の発現が未分化時に高いことに注目し、H3.1 と H3.3 取り込みバランスと、細胞の分化能との関係を検討した。木村と共同し、骨格筋芽細胞 C2C12 細胞に GFP-H3.1 を強制発現させると、骨格筋分化が抑制されることを明らかにした(Harada, Kimura, Ohkawa et al, *Nucleic Acids Res.*, 2015)。未分化段階では骨格筋遺伝子座が近接しており、この近接が未分化段階での遺伝子活性化抑制に寄与していることも明らかにした(Harada, Ohkawa et al, *Nucleic Acids Res.*, 2015)。以上の結果は、多様な研究者の共同により得られた成果であり、分化能形成の本質的な理解に資するものである[領域研究対象(1)、(4)]。さらに、大川は、マウスゲノム上に存在する新規 H3 バリエーション群について、骨格筋細胞の分化能への関与を、1)発現量の解析、2)木村と共同してクロマチンへの取り込みの有無、3)胡桃坂と共同して生化学的解析及び抗体作製、4)山縣と共同しノックアウトマウスによる機能評価を進めている。

### 3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況（2 ページ程度）

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、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

領域運営にあたり審査部会より、下記の所見を受けた。対応が必要な事項を下線で示している。

（審査部会所見、原文）

本研究領域は、遺伝子発現制御とクロマチン構造のダイナミクスの関連性について、原子分子構造レベル、分子間相互作用レベル、核構造レベル、高次機能レベルで統合的な解明を目指すものである。学術的重要性は高く、また非常にタイムリーな研究課題であり、新学術領域研究としてふさわしい提案である。

一方で、計画している内容が非常に膨大であるため、研究目的の達成に向けた一層の意思統一が必要と思われる。特に、構造機能相関から高次機能解析へどのように結びつけるかが課題であり、異なる研究階層間のギャップを埋めるための具体的方策について、さらなる検討が必要である。また、将来的には疾患治療へも展開することが望ましい。

研究組織については、当該分野において実績のある計画研究代表者で構成され、各計画研究が有機的に連携できる仕組みを構築している。研究領域の格段の発展と周辺領域への波及効果も期待できる。また、企画調整、研究支援活動、若手研究者育成について十分検討されている。一方で、公募研究の選定方針や広報・アウトリーチ活動については、具体策を検討する必要がある。

適切にご指摘を受けたことに感謝し、下記のようにそれぞれ真摯に対応することで、本領域の発展につとめた。

コメント(1): 計画している内容が非常に膨大であるため、研究目的の達成に向けた一層の意思統一が必要と思われる。

本領域は、遺伝情報の発現と収納を支える“動的クロマチン構造と機能”の分子・構造基盤を理解することを目指している。そのため、多様な専門性を持つ研究者（構造生物学、計算科学、分子・細胞イメージング、超解像イメージング、画像解析、プロテオミクス、ゲノミクス、生化学、細胞生物学、発生生物学）が、それぞれに高い独自性を持って世界的にも先端的な研究を推進している。一方で、ご指摘のとおり研究内容が膨大であることは事実である。領域構成員はそれを十分に認識し、期間内に研究目的を達成することの重要性を理解している。研究成果が散漫にならずに、“動的クロマチン”をキーワードとして一定の方向性をもって研究を遂行するよう、毎年開催される班会議の場や、領域より発行されるニュースレターなどを介して、常に意思の統一をはかっている。また後述するように、領域内研究拠点を設置して発展的な領域内共同研究を推進することや、特定の研究会やシンポジウムなどを領域が共催や後援することにより、本領域の方向性を明確に提示している。これらの対応の効果もあり、多様な研究者による共同研究による新たな展開が大きく進展し、領域内共同研究によって33報の論文が既に出るなど、クロマチン動構造を基軸とした多大な研究成果がもたらされている。

コメント(2): 特に、構造機能相関から高次機能解析へどのように結びつけるかが課題であり、異なる研究階層間のギャップを埋めるための具体的方策について、さらなる検討が必要である。

本コメントの重要性を理解し、異なる研究階層間のギャップを効果的に埋めることに努めた。

例えば、本領域内に「再構成クロマチン研究拠点」「イメージング・画像解析拠点」を設け、領域内の実験材料や技術の共有、情報の交換を推進した。さらに「ゲノミクス」及び「プロテオミクス」に関しても、九州大学（大川）と北海道大学（小布施）に研究中核を設置した。これらの活動により、精製ヒストンや再構成クロマチン、ヒストン修飾抗体及びバリエーションの抗体などの共有化や、それらを用いた研究階層を超えた連携が生まれ、新たな研究が展開されている。例えば、ヒストンバリエーションの研究に関しては、胡桃坂を中心としてほぼすべての計画研究者が関わり、それぞれの特性を活かしながら相互に有益な研究成果を挙げている。大川のゲノミクス解析による多数の新規バリエーションの同定に端を発し、木村、徳永、斉藤らが細胞核内での分布や分子動態解析を行い、胡桃坂、河野らが構造の決定と計算科学を、小布施、原田らが細胞機能の解析を、

そして、山縣がマウス個体における機能解析を行い、高次生命機能におけるヒストンバリエントの役割を解明、雄性不妊などの疾患との関連、病態解析と治療の可能性の解明に迫るに至った。

同様に、当初クロマチンと直接的な関係が薄いと予想されていた核膜・核膜孔因子が、米田、安原、岡、小布施、原口、胡桃坂、大川、木村らにより、クロマチンの制御因子であることが判明し(Moriyama, Obuse, Oka, Yoneda, *Biochem Biophys Res Commun*, 2015等)、また、クロマチンと細胞核構造の階層を超えた生体内の連携が解明されつつある(Kobayashi, Haraguchi et al, *PNAS*, 2015; Asakawa, Tokunaga, Haraguchi et al, *Nucleus*, 2014)。

これらの新たな発見は、本領域が擁する多様な人材、実験技術、知見、情報の共有によるもので、新学術領域研究の組織が十分に生かされている。

#### **コメント(3): 将来的には疾患治療へも展開することが望ましい。**

本コメントを受けて、各研究計画において疾患治療への展開の道筋をつける方策を検討した。医学基盤研究所(2014年5月23日、大阪)において、「クロマチン動構造と創薬」セミナーを開催し、クロマチン動構造研究と創薬研究間の密な情報交換を図った。クロマチン動構造研究で確立されたドラッグスクリーニング技術の創薬への応用、ヒストンやクロマチン・核構成因子が、疾患の治療や診断の標的となる可能性などについて検討を行い、一部は論文発表に至った。具体的には、白血病(核膜孔タンパク質)、がん(ヒストンバリエント、Importin  $\alpha$ )、不妊(ヒストンバリエント)、難治性乳がん(核内構造体非コード RNA; Tomita, Ohkawa, Saitoh et al *Nature Commun*, 2015)の治療への可能性を提唱した。

#### **コメント(4): 公募研究の選定方針や広報・アウトリーチ活動については、具体策を検討する必要がある。**

指摘を受けて、下記のような具体策を検討し、実行した。

公募研究は、(1)計画研究を補完する研究、(2)計画研究と共同研究を発展できる研究を選定することとしている。平成26~27年度においては、染色体の生化学的な再構成、中性子及びX線小角散乱によるヌクレオソームの構造解析、転写や染色体動態を制御する非コードRNA研究などを含む多彩な公募研究が、クロマチン動構造研究の推進に貢献した。領域内共同研究も多く生まれ、成果を既にあげているものもある。今後もさらに領域の発展に貢献する公募研究を選定する。詳細は、「10. 今後の研究領域の推進方策-公募研究による重点的な補充」を参照されたい。

広報活動については、領域ホームページ(<http://nucleosome.kyushu-u.ac.jp/>)を開設し、ニュースレターを定期的に発行することにより、領域活動を一般社会と研究者コミュニティに発信している。領域から重要な論文が発表された際には、プレスリリースや領域ホームページ、ニュースレターで広報し、新聞報道(朝日新聞、毎日新聞、産経新聞など多数)やテレビ報道(NHK, RKK など)などでも取り上げられた。また、領域に関連する研究会、学会、講習会も随時ホームページで情報の共有を行った。今後もこれらの媒体を介して、本領域の活動について積極的に情報を発信してゆく。

アウトリーチ活動については、一般公開シンポジウム(2013年8月25日、2015年1月12日、大阪)、細胞生物学ワークショップ(2013年8月5~10日、2014年8月4~9日、神戸)、次世代シーケンサー講習会(2014年3月17~19日、福岡)、中高生に対する特別授業、子供向け顕微鏡講習会など、20件以上の講演、一般セミナーを開催した。本領域で生まれたクロマチン動構造の知見を、一般社会にわかりやすく発信した。また、事後アンケートなどで得られた感想や意見を受け止め、情報発信の質の向上につとめた。Faculty Developmentの一環として、第二回、第三回の領域会議(2014年7月3~5日と2015年5月7~9日、いずれも北海道)において、高校の理科教材開発の専門家(高崎健康福祉大学人間発達学部 片山豪教授)を招き、研究・先端技術を高等教育に効率よく反映させ、教材の開発へと導く可能性について情報交換を行った。これらにより、研究と社会との接点を広げ、研究の成果をより効果的に社会に発信・還元する活動を行った。

以上のように、審査部会の貴重な指摘に対応することで、領域は当初の想定を超えて発展している。

#### 4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

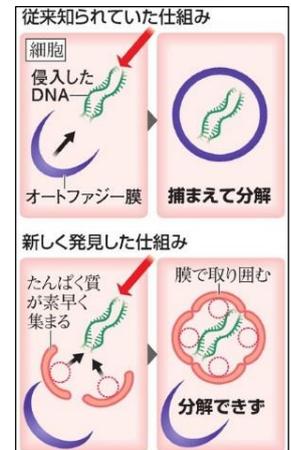
（3 ページ程度）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

以下に示す論文については、すべて査読あり

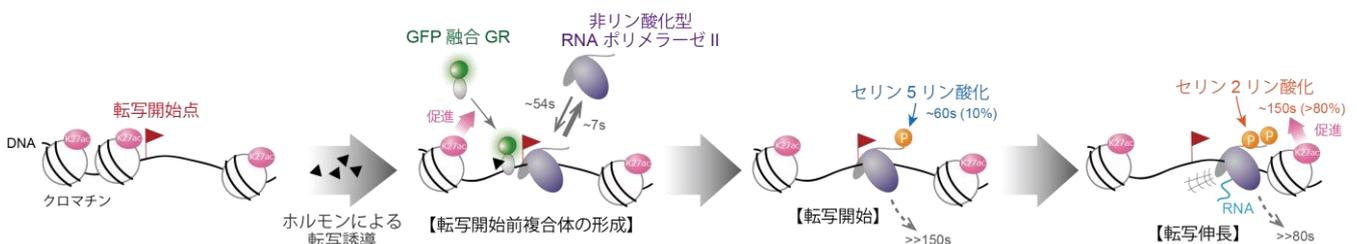
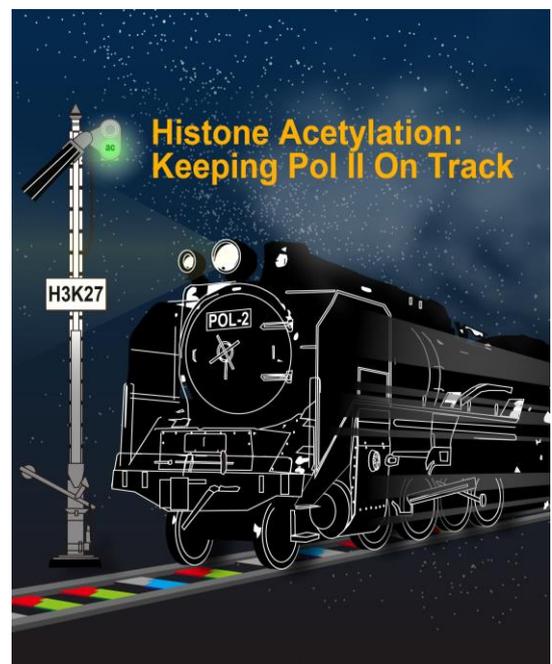
##### <計画研究>

BAF is a cytosolic DNA sensor that leads to exogenous DNA avoiding autophagy (2015) Kobayashi S, Koujin T, Kojidani T, Osakada H, Mori C, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, in press  
 領域内の共同研究により、原口、平岡（公募研究）らは、DNA ビーズを細胞内に入れてその挙動を解析した。細胞内に入ると直ぐに、クロマチン結合因子であるBAFがDNAに結合し、核膜に似た膜でDNAを覆うと、オートファジーが回避されることが分かった。本研究は、ウイルス感染の防止や遺伝子を細胞内に届ける新手法に繋がる可能性がある。



A cluster of noncoding RNAs activates the ESR1 locus during breast cancer adaptation (2015) Tomita S, Abdalla MO, Fujiwara S, Matsumori H, Maehara K, Ohkawa Y, Iwase H, \*Saitoh N, \*Nakao M. *Nature Communications* 6, 6966.  
 領域内の共同研究により、斉藤、大川らは、乳がんのホルモン治療耐性細胞のトランスクリプトーム解析を行った。乳がん再発過程で過剰発現する遺伝子の活性化に、核内RNA構造体を形成する新規非コードRNA、エレノアが重要であることを示した。ポリフェノール的一种であるレスベラトロールはエレノアとがん細胞の増殖を阻害した。本研究は、核構造を介した新たなクロマチン制御メカニズムを解明するとともに、乳がんの診断と治療の可能性を示した。

Regulation of RNA polymerase II activation by histone acetylation in single living cells (2014) \*Stasevich TJ, Hayashi-Takanaka Y, Sato Y, Maehara K, Ohkawa Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Nagase T, Nozaki N, McNally JG, \*Kimura H. *Nature* 516, 272-275.  
 領域内の共同研究により、木村、大川及び徳永らは生細胞内での転写開始から伸長反応におけるヒストン及びRNAポリメラーゼIIの修飾を経時的に観察する系を確立した。その結果、ヒストン修飾が転写のどの段階に寄与しているのかを従来の研究より明確に示すことが出来た。今後は、単一の生細胞を用いた転写とヒストン修飾動態の解析により、個々の細胞レベルでの遺伝子発現制御機構の解明が進むと期待できる。



Incorporation of histone H3.1 suppresses the lineage potential of skeletal muscle (2015) Harada A, Maehara K, Sato Y, Konno D, Tachibana T, Kimura H, \*Ohkawa Y. *Nucleic Acids Research* 43, 775-786.

領域内の共同研究により、大川及び木村らはヒストン H3 バリエントの発現パターンと細胞分化の関連を調べ、骨格筋分化能は H3.3 バリエントのクロマチン中への取り込みと密接に関わることを明らかにした。本研究は、ヒストンの選択的発現を制御することで様々な細胞の分化能を制御できる可能性を示した。

Distinct features of the histone core structure in nucleosomes containing the histone H2A.B variant (2014) \*Sugiyama M, Arimura Y, Shirayama K, Fujita R, Oba Y, Sato N, Inoue R, Oda T, Sato M, Heenan RK, \*Kurumizaka H. *Biophysical Journal* 106, 2206-2213.

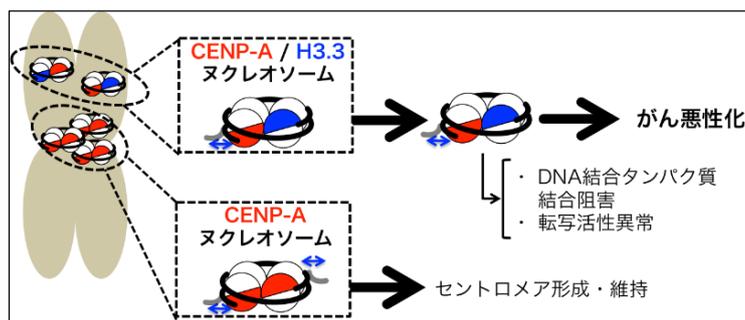
領域内の共同研究により、胡桃坂、杉山（公募研究）、小田（公募研究）らは、DNA が開いたヌクレオソーム構造を形成するヒストンバリエント H2A.B が、ヌクレオソーム中ではテールをコンパクトに収納した特殊な構造を形成することを、中性子小角散乱法により明らかにした。



Crystal structure and stable property of the cancer-associated heterotypic nucleosome containing CENP-A and H3.3 (2014) Arimura Y, Shirayama K, Horikoshi N, Fujita R, Taguchi H, Kagawa W, Fukagawa T, Almouzni G, \*Kurumizaka H. *Scientific Reports* 4, 7115.

Mislocalization of the centromeric histone variant CenH3/CENP-A in human cells depends on the chaperone DAXX. (2014) Lacoste N, Woolfe A, Tachiwana H, Garea AV, Barth T, Cantaloube S, Kurumizaka H, Imhof A, \*Almouzni G. *Molecular Cell* 53, 631-644.

異なるヒストン H3 バリエントを一分子ずつ含む変異型ヌクレオソームの形成が、胡桃坂らの共同研究により明らかになった (Mol. Cell)。そこで領域内の共同研究により、胡桃坂及び香川（公募研究）らはこの変異型ヌクレオソームの構造解析を行った。その結果、がんの悪性化に寄与するとされているヌクレオソームの構造生物学的及び生化学的特徴について明らかにすることが出来た。



Histone H4 Lys 20 mono-methylation of the CENP-A nucleosome is essential for kinetochore assembly (2014) Hori T, Shang W H, Toyoda A, Misu S, Monma N, Ieko K, Molina O, Vargiu G, Fujiyama A, Kimura H, Earnshaw W C, \*Fukagawa T. *Developmental Cell* 29, 740-749.

領域内の共同研究により、堀及び木村らは染色体の均等分配を可能にしているセントロメア領域の形成にヒストン H4 の 20 番目のリジンのモノメチル化が必要であることを明らかにした。

Heterochromatin Dynamics during the Differentiation Process Revealed by the DNA Methylation Reporter Mouse, MethylRO (2014) Ueda J, Maehara K, Mashiko D, Ichinose T, Yao T, Hori M, Sato Y, Kimura H, Ohkawa Y, \*Yamagata K. *Stem Cell Reports* 2, 910-924.



領域内の共同研究により、山縣、大川及び木村らはメチル化 DNA を全身にわたりイメージングにより解析できるマウスを作製した。マウスの着床前初期胚発生過程及び ES 細胞の樹立過程におけるメチル化 DNA の長期ライブセルイメージングを行い、核内の DNA メチル化レベルの増減だけでなくクロマチン構造そのものが細胞分化の指標になり得ることを明らかにした。

Characterization of nuclear pore complex components in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* (2014) [Asakawa H](#), Yang HJ, Yamamoto TG, Ohtsuki C, Chikashige Y, [Sakata-Sogawa K](#), [Tokunaga M](#), Iwamoto M, [\\*Hiraoka Y](#), [\\*Haraguchi T](#). *Nucleus* 5, 149-162.

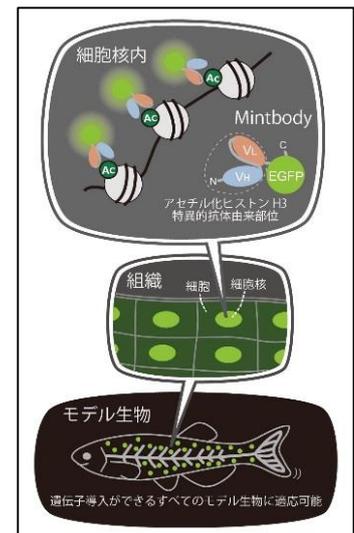
領域内の共同研究により、原口、浅川及び平岡(公募研究)らは分裂酵母の核膜孔複合体の解析を行った。核膜孔の構成因子であるヌクレオポリンがゲノムの安定性にも必須の役割をもつことを示した。

Structural basis of a nucleosome containing histone H2A.B/H2A.Bbd that transiently associates with reorganized chromatin (2013) Arimura Y, [\\*Kimura H](#), [Oda T](#), Sato K, Osakabe A, Tachiwana H, Sato Y, Kinugasa Y, [Ikura T](#), [Sugiyama M](#), Sato M, [\\*Kurumizaka H](#). *Scientific Reports*. 3, 3510.

領域内の共同研究により、胡桃坂、木村らは、後に公募研究として参画する小田、杉山とともに、ヒストンバリエント H2A.B のヌクレオソーム形成能、立体構造、細胞機能などの解析を行った。その結果、H2A.B が取り込まれたヌクレオソームは、DNA がフレキシブルに開いた特殊な構造を形成しており、DNA 複製や DNA 修復の際に一過的にクロマチンに取り込まれて機能していることが明らかになった。

Genetically encoded system to track histone modification in vivo (2013) Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M, Stasevich TJ, Horikoshi N, Kujirai T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, [Obuse C](#), [Kurumizaka H](#), Kawahara A, [Yamagata K](#), Nozaki N, [\\*Kimura H](#). *Scientific Reports* 3, 2436.

領域内の共同研究により、木村、小布施、胡桃坂及び山縣らは細胞内にヒストン修飾を認識する抗体由来の一本鎖可変領域を蛍光タンパク質との融合タンパク質を発現させ、生細胞内においてヒストン修飾の動態を解析する系を確立した。本手法は、遺伝子導入が可能なすべてのモデル生物に応用することができるため、発生・分化に伴うヒストン修飾動態の解明やエピゲノムを標的とした創薬開発等への幅広い貢献が期待できる。



#### <公募研究>

Chromokinesin Kid and kinetochore kinesin CENP-E differentially support chromosome congression without end-on attachment to microtubules (2015) Iemura K, [\\*Tanaka K](#). *Nature Communications* 6, 6447.

田中らは、染色体が細胞分裂期に紡錘体中央に整列する過程に、Kid と CENP-E という 2 つのモーター分子が関与していることを明らかにした。

Antagonistic controls of chromatin and mRNA start site selection by Tup family corepressors and the CCAAT-binding factor (2015) Asada R, Takemata N, Hoffman CS, Ohta K, [\\*Hirota K](#). *Molecular and Cellular Biology* 35, 847-855.

非コード RNA 転写と共役したクロマチン制御機構の一端として、CCAAT 結合性転写因子による Tup ファミリーリプレッサーの段階的拮抗制御が転写開始部位の精密決定に必須の役割を持つことを解明した。

Crystal structure of the homology domain of the eukaryotic DNA replication proteins Sld3/Treslin (2014) Ito H, Muramatsu S, Shirakihara Y, [\\*Araki H](#). *Structure* 22, 1341-1347.

荒木らは、染色体 DNA の複製開始に必須な出芽酵母の Sld3 タンパク質の構造を決定することにより、もう一つの複製因子である Cdc45 タンパク質との結合機構の一端を明らかにした。これは、今後のクロマチン複製研究の礎となるものであ

る。

Ki67 antigen contributes to the timely accumulation of protein phosphatase 1  $\gamma$  on anaphase chromosomes (2014) Takagi M, Nishiyama Y, Taguchi A, \*Imamoto N. *The Journal of Biological Chemistry* 289, 22877-22887.

細胞増殖マーカーとして汎用されている Ki67 抗原が、脱リン酸化酵素 PP1 $\gamma$ と直接相互作用することを示した。この相互作用により、PP1  $\gamma$  が分裂後期染色体に効率よく集積することを示した。

## 5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。また、別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。

【主な論文、計画研究(公募研究との共著論文を含む)】すべて査読あり

1. hCAS/CSE1L regulates RAD51 distribution and focus formation for homologous recombinational repair (2015) Okimoto S, Sun J, Fukuto A, Horikoshi Y, Matsuda S, Matsuda T, Ikura M, Ikura T, Machida S, Kurumizaka H, Miyamoto Y, Oka M, Yoneda Y, Kiuchi Y, \*Tashiro S. *Genes Cells* in press.
2. ◎Mutations in the E2 conjugating enzyme UBE2T gene cause Fanconi anemia (2015) Hira A, Yoshida K, Sato K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Shimamoto A, Tahara H, Ito E, Kojima S, Kurumizaka H, Ogawa S, \*Takata M, Yabe H, Yabe M. *AJHG*, 96, 1001-1007.
3. Cdt1-binding protein GRWD1 is a novel histone-binding protein that facilitates MCM loading through its influence on chromatin architecture (2015) Sugimoto N, Maehara K, Yoshida K, Yasukouchi S, Osano S, Watanabe S, Aizawa M, Yugawa T, Kiyono T, Kurumizaka H, Ohkawa Y, \*Fujita, M. *Nucleic Acids Res.* online.
4. Human FAN1 promotes strand incision in 5' flapped DNA complexed with RPA (2015) Takahashi D, Sato K, Hirayama E, Takata M, \*Kurumizaka H, *J. Biochem.* in press.
5. Stable complex formation of CENP-B with the CENP-A nucleosome (2015) Fujita R, Otake K, Arimura Y, Horikoshi N, Miya Y, Shiga T, Osakabe A, Tachiwana H, Ohzeki J, Larionov V, \*Masumoto H, \*Kurumizaka H. *Nucleic Acids Res.* online.
6. Charge-neutralization effect of the tail regions on the histone H2A/H2B dimer structure (2015) Saikusa K, Shimoyama S, Asano Y, Nagadoi A, Sato M, Kurumizaka H, Nishimura Y, \*Akashi S. *Protein Sci.* in press.
7. Human tNASP promotes in vitro nucleosome assembly with histone H3.3 (2015) Kato D, Osakabe A, Tachiwana H, Tanaka H, \*Kurumizaka H. *Biochemistry*. 54, 1171-1179.
8. ◎Mass spectrometric approach for characterizing the disordered tail regions of the histone H2A/H2B dimer (2015) Saikusa K, Nagadoi A, Hara K, Fuchigami S, Kurumizaka H, Nishimura Y, \*Akashi S. *Anal Chem*. 87, 2220-2227.
9. ◎Two arginine residues suppress the flexibility of nucleosomal DNA in the canonical nucleosome core (2015) \*Kono H, Shirayama K, Arimura Y, Tachiwana H, Kurumizaka H. *PLoS One*. 10, e0120635.
10. H3K9MTase G9a is essential for the differentiation and growth of tenocytes in vitro (2015) Wada S, Ideno H, Shimada A, Kamiunten T, Nakamura Y, Nakashima K, Kimura H, Shinkai Y, Tachibana M, \*Nifuji A. *Histochem Cell Biol*. in press.
11. JMJD1A is a signal-sensing scaffold that regulates acute chromatin dynamics via SWI/SNF association for thermogenesis (2015) Abe Y, Rozqie R, Matsumura Y, Kawamura T, Nakaki R, Tsurutani Y, Tanimura-Inagaki K, Shiono A, Magoori K, Nakamura K, Ogi S, Kajimura S, Kimura H, Tanaka T, Fukami K, Osborne TF, Kodama T, Aburatani H, \*Inagaki T, \*Sakai J. *Nat Commun*. 6, 7052.
12. Mammalian NET-Seq Reveals Genome-wide Nascent Transcription Coupled to RNA Processing (2015) Nojima T, Gomes T, Grosso AR, Kimura H, Dye MJ, Dhir S, \*Carmo-Fonseca M, \*Proudfoot NJ. *Cell* 161, 526-540.
13. SUV420H2 suppresses breast cancer cell invasion through down regulation of the SH2 domain-containing focal adhesion protein tensin-3 (2015) Shinchi Y, \*Hieda M, Nishioka Y, Matsumoto A, Yokoyama Y, Kimura H, Matsuura S, Matsuura N. *Exp Cell Res*. 334, 90-99.
14. Quantitative Dynamics of Chromatin Remodeling during Germ Cell Specification from Mouse Embryonic Stem Cells (2015) \*Kurimoto K, Yabuta Y, Hayashi K, Ohta H, Kiyonari H, Mitani T, Moritoki Y, Kohri K, Kimura H, Yamamoto T, Katou Y, Shirahige K, \*Saitou M. *Cell Stem Cell*. 16, 517-532.
15. ◎Phenotype specific analyses reveal distinct regulatory mechanism for chronically activated p53 (2015) Kirschner K, Samarajiwa SA, Cairns JM, Menon S, Perez-Mancera PA, Tomimatsu K, Bermejo-Rodriguez C, Ito Y, Chandra T, Narita M, Lyons SK, Lynch AG, Kimura H, Ohbayashi T, \*Tavare S, \*Narita M. *PLoS Genet*. 11, e1005053.
16. Coordinated expression of H3K9 histone methyltransferases during tooth development in mice (2015) Kamiunten T, Ideno H, Shimada A, Nakamura Y, Kimura H, Nakashima K, \*Nifuji A. *Histochem Cell Biol*. 143, 259-266.
17. H3K36 Trimethylation-Mediated Epigenetic Regulation is Activated by Bam and Promotes Germ Cell Differentiation During Early Oogenesis in Drosophila (2015) \*Mukai M, Hira S, Nakamura K, Nakamura S, Kimura H, Sato M, Kobayashi S. *Biol Open*. 4, 119-124.
18. Early Development of Cloned Bovine Embryos Produced from Oocytes Enucleated by Fluorescence Metaphase II Imaging Using a Conventional Halogen-Lamp Microscope (2015) Iwamoto D, Yamagata K, Kishi M, Hayashi-Takanaka Y, Kimura H, Wakayama T and \*Saeki K. *Cellular Reprogramming*. 17, 106-114.
19. Stella preserves maternal chromosome integrity by inhibiting 5hmC-induced gammaH2AX accumulation (2015) Nakatani T, Yamagata K, Kimura T, Oda M, Nakashima H, Hori M, Sekita Y, Arakawa T, Nakamura T, \*Nakano T. *EMBO Rep*. 16, 582-589.
20. BAF is a cytosolic DNA sensor that leads to exogenous DNA avoiding autophagy (2015) Kobayashi S, Koujin T, Kojidani T, Osakada H, Mori C, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. *Proc Natl Acad Sci USA*. in press
21. Biased assembly of the nuclear pore complex is required for somatic and germline nuclear differentiation in Tetrahymena (2015) Iwamoto M, Koujin T, Osakada H, Mori C, Kojidani T, Matsuda A, Asakawa H, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. *J Cell Sci*. 128, 1812-1823.
22. ◎Regulation of homologous recombinational repair by lamin B1 in radiation-induced DNA damage (2015) Liu NA, Sun J, Kono K, Horikoshi Y, Ikura T, Tong X, Haraguchi T, \*Tashiro S. *FASEB J*. in press.
23. Identification and characterization of a nuclear localization signal of TRIM28 that overlaps with the HP1 box (2015) Moriyama T, Sangel P, Yamaguchi H, Obuse C, Miyamoto Y, \*Oka M, \*Yoneda Y. *Biochem Biophys Res Commun*. 462, 201-207.
24. ◎Proteomic identification of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K as a novel cold-associated autoantigen in patients with secondary Raynaud's phenomenon (2015) Yang L, Fujimoto M, Murota H, Serada S, Fujimoto M, Honda H, Yamada K, Suzuki K, Nishikawa A, Hosono Y, Yoneda Y, Takehara K, Imura Y, Mimori T, Takeuchi T, Katayama I, \*Naka T. *Rheumatology (Oxford)*. 54, 349-358.
25. ◎A cluster of noncoding RNAs activates the ESR1 locus during breast cancer adaptation (2015) Tomita S, Abdalla MOA, Fujiwara S, Matsumori H, Maehara K, Ohkawa Y, Iwase H, \*Saitoh N, \*Nakao M. *Nat Commun*. 6, 6966.
26. Contribution of nuclear actin to transcription regulation (2015) Yamazaki S, Yamamoto K, \*Harata M. *Genom Data* 4, 127-129.
27. The linker histone in Saccharomyces cerevisiae interacts with actin-related protein 4 and both regulate chromatin structure and cellular morphology (2015) Georgieva M, Staneva D, Uzunova K, Efremov T, Balashev K, Harata M, \*Miloshev G. *Int J Biochem Cell Biol*. 59, 182-192.
28. ◎Nuclear actin activates human transcription factor genes including the OCT4 gene (2015) Yamazaki S, Yamamoto K, Tokunaga M, Sakata-Sogawa K, \*Harata M. *Biosci Biotechnol Biochem*. 79, 242-246.

29. Oposing calcium dependent signaling pathways control skeletal muscle differentiation by regulating a chromatin remodeling enzyme (2015) Nasipakb B, Padilla-Benavides T, Green K, Leszyk J, Mao W, Konda S, Sif S, Shaffer S, [Ohkawa Y](#), \*Imbalzano AN. *Nat Commun.* in press.
30. ©agplus: a rapid and flexible tool for aggregation plots. (2015) Maehara K, [Ohkawa Y](#). *Bioinformatics.* in press.
31. ©PSMC5, a 19S Proteasomal ATPase, Regulates Cocaine Action in the Nucleus Accumbens. Ohnishi YH, Ohnishi YN, Nakamura T, Ohno M, Kennedy PJ, [Ohkawa Y](#), Nishi A, Neve R, Tsuzuki T, Nestler EJ. (2015) *PLoS One.* 10, e0126710.
32. ©SWI/SNF chromatin-remodeling complexes function in noncoding RNA-dependent assembly of nuclear bodies. Kawaguchi T, Tanigawa A, Naganuma T, [Ohkawa Y](#), Souquere S, Pierron G, Hirose T. (2015) *Proc Natl Acad Sci USA.* 112, 4304-4309.
33. ©Spatial re-organization of myogenic regulatory sequences temporally controls gene expression (2015) Harada A, Mallappa C, Okada S, Butler J.T, Baker S.P, Lawrence J.B, [Ohkawa Y](#), \*Imbalzano A.N. *Nucleic Acids Res.* 43, 2008-2021.
34. ©MED26 regulates the transcription of snRNA genes through the recruitment of little elongation complex (2015) Takahashi H, Takigawa I, Watanabe M, Anwar D, Shibata M, Tomomori-Sato C, Sato S, Ranjan A, Seidel C.W, Tsukiyama T, Mizushima W, Hayashi M, [Ohkawa Y](#), Conaway J.W, Conaway R.C, \*Hatakeyama S. *Nat Commun.* 6, 5941.
35. Green fluorescent protein fused to the C-terminal end of RAD51 specifically interferes with secondary DNA binding by the RAD51-ssDNA complex (2014) Kobayashi W, Sekine S, Machida S, \*[Kurumizaka H](#). *Genes Genet. Syst.* 89, 169-179.
36. ©Defective FANCI binding by a fanconi anemia-related FANCD2 mutant (2014) Sato K, Ishiai M, Takata M, \*[Kurumizaka H](#). *PLoS One.* 9, e114752.
37. ©Crystal structure and stable property of the cancer-associated heterotypic nucleosome containing CENP-A and H3.3 (2014) Arimura Y, Shirayama K, Horikoshi N, Fujita R, Taguchi H, [Kagawa W](#), Fukagawa T, Almouzni G, \*[Kurumizaka H](#). *Sci Rep.* 4, 7115.
38. N-terminal phosphorylation of HP1alpha increases its nucleosome-binding specificity (2014) Nishibuchi G, Machida S, Osakabe A, Murakoshi H, Hiragami-Hamada K, Nakagawa R, Fischle W, Nishimura Y, [Kurumizaka H](#), Tagami H, \*Nakayama J. *Nucleic Acids Res.* 42, 12498-12511.
39. DNA binding properties of the actin-related protein Arp8 and its role in DNA repair (2014) Osakabe A, Takahashi Y, Murakami H, Otawa K, Tachiwana H, Oma Y, Nishijima H, Shibahara KI, \*[Kurumizaka H](#), \*Harata M. *PLoS One.* 9, e108354.
40. A method for evaluating nucleosome stability with a protein-binding fluorescent dye (2014) Taguchi H, Horikoshi N, Arimura Y, \*[Kurumizaka H](#). *Methods.* 70, 119-126.
41. ©Expression and purification of human FANCI and FANCD2 using Escherichia coli cells (2014) Takahashi D, Sato K, Shimomuki M, Takata M, \*[Kurumizaka H](#). *Protein Expr Purif.* 103, 8-15.
42. ©Distinct features of the histone core structure in nucleosomes containing the histone H2A.B variant (2014) \*[Sugiyama M](#), Arimura Y, Shirayama K, Fujita R, Oba Y, Sato N, Inoue R, [Oda T](#), Sato M, Heenan RK, \*[Kurumizaka H](#). *Biophys J.* 106, 2206-2213.
43. ©Nap1 stimulates homologous recombination by RAD51 and RAD54 in higher-ordered chromatin containing histone H1 (2014) Machida S, Takaku M, Ikura M, Sun J, Suzuki H, Kobayashi W, Kinomura A, Osakabe A, Tachiwana H, Horikoshi Y, Fukuto A, Matsuda R, Ura K, [Tashiro S](#), [Ikura T](#), \*[Kurumizaka H](#). *Sci Rep.* 4, 4863.
44. ©FANCD2 binds CtIP and regulates DNA-end resection during DNA interstrand crosslink repair (2014) Unno J, Itaya A, Taoka M, Sato K, Tomida J, Sakai W, Sugawara K, Ishiai M, [Ikura T](#), Isobe T, [Kurumizaka H](#), \*Takata M. *Cell Rep.* 7, 1039-1047.
45. Structure of human nucleosome containing the testis-specific histone variant TSH2B (2014) Urahama T, Horikoshi N, Osakabe A, Tachiwana H, \*[Kurumizaka H](#). *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.* 70, 444-449.
46. Mislocalization of the centromeric histone variant CenH3/CENP-A in human cells depends on the chaperone DAXX (2014) Lacoste N, Woolfe A, Tachiwana H, Gare A V, Barth T, Cantaloube S, [Kurumizaka H](#), Imhof A, \*Almouzni G. *Mol Cell.* 53, 631-644.
47. Compensatory functions and interdependency of the DNA-binding domain of BRCA2 with the BRCA1-PALB2-BRCA2 complex (2014) Al Abo M, Dejsuphong D, Hirota K, Yonetani Y, Yamazoe M, [Kurumizaka H](#), \*Takeda, S. *Cancer Res.* 74, 797-807.
48. Telomeric repeats act as nucleosome-disfavouring sequences in vivo (2014) Ichikawa Y, Morohashi N, Nishimura Y, \*[Kurumizaka H](#), \*Shimizu M. *Nucleic Acids Res.* 42, 1541-1552.
49. Functional analyses of the C-terminal half of the Saccharomyces cerevisiae Rad52 protein (2014) \*[Kagawa W](#), Arai N, Ichikawa Y, Saito K, Sugiyama S, Saotome M, Shibata T, \*[Kurumizaka H](#). *Nucleic Acids Res.* 42, 941-951.
50. The centromeric nucleosome-like CENP-T-W-S-X complex induces positive supercoils into DNA (2014) Takeuchi K, Nishino T, Mayanagi K, Horikoshi N, Osakabe A, Tachiwana H, [Hori T](#), [Kurumizaka H](#), \*Fukagawa T. *Nucleic Acids Res.* 42, 1644-1655.
51. ©Histone H4 Lys 20 monomethylation of the CENP-A nucleosome is essential for kinetochore assembly (2014) [Hori T](#), Shang WH, Toyoda A, Misu S, Monma N, Ikeo K, Molina O, Vargiu G, Fujiyama A, [Kimura H](#), Earnshaw WC, \*Fukagawa T. *Dev Cell.* 29, 740-749.
52. The CENP-O complex requirement varies among different cell types (2014) Kagawa N, [Hori T](#), Hoki Y, Hosoya O, Tsutsui K, Saga Y, [Sado T](#), \*Fukagawa T. *Chromosome Res.* 22, 293-303.
53. Intensity of Diffracted X-rays from Biomolecules with Radiation Damage Caused by Strong X-ray Pulses (2014) \*Kai T, Tokuhisa A, Moribayashi K, Fukuda Y, [Kono H](#), Go N. *Journal of the Physical Society of Japan.* 83, 094301.
54. ©Local dynamics coupled to hydration water determines DNA-sequence-dependent deformability (2014) Nakagawa H, Yonetani Y, Nakajima K, Ohira-Kawamura S, Kikuchi T, Inamura Y, \*Kataoka M, \*[Kono H](#). *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 90, 022723.
55. Adaptive lambda square dynamics simulation: an efficient conformational sampling method for biomolecules (2014) Ikebe, J, Sakuraba S, \*[Kono H](#). *J Comput Chem.* 35, 39-50.
56. ©An annexin A1-FPR1 interaction contributes to necroptosis of keratinocytes in severe cutaneous adverse drug reactions (2014) Saito N, Qiao H, Yanagi T, Shinkuma S, Nishimura K, Suto A, Fujita Y, Suzuki S, Nomura T, Nakamura H, Nagao K, [Obuse C](#), \*Shimizu H, \*Abe R. *Sci Transl Med.* 6, 245ra95.
57. ©A novel method for purification of the endogenously expressed fission yeast Set2 complex (2014) Suzuki S, Nagao K, [Obuse C](#), Murakami Y, \*Takahata S. *Protein Expr Purif.* 97, 44-49.
58. ©CxxC-ZF domain is needed for KDM2A to demethylate histone in rDNA promoter in response to starvation (2014) Tanaka Y, Umata T, Okamoto K, [Obuse C](#), \*Tsuneoka M. *Cell Struct Funct.* 39, 79-92.
59. ©Regulation of RNA polymerase II activation by histone acetylation in single living cells (2014) \*Stasevich TJ, Hayashi-Takanaka Y, Sato Y, Maehara K, [Ohkawa Y](#), [Sakata-Sogawa K](#), [Tokunaga M](#), Nagase T, Nozaki N, McNally JG, \*[Kimura H](#). *Nature* 516, 272-275.
60. Evaluation of chemical fluorescent dyes as a protein conjugation partner for live cell imaging (2014) Hayashi-Takanaka Y, Stasevich TJ, [Kurumizaka H](#), Nozaki N, \*[Kimura H](#). *PLoS One.* 9, e106271.
61. DNA methylation reader MECP2: cell type- and differentiation stage-specific protein distribution (2014) Song C, Feodorova Y, Guy J, Peichl L, Jost KL, [Kimura H](#), Cardoso MC, Bird A, Leonhardt H, Joffe B, \*Solovei I. *Epigenetics Chromatin.* 7, 17.
62. Quantifying histone and RNA polymerase II post-translational modification dynamics in mother and daughter cells (2014) \*Stasevich TJ, Sato Y, Nozaki N, \*[Kimura H](#). *Methods.* 70, 77-88.
63. Adhesion of suspension cells on a coverslip in serum-free conditions (2014) Nakayama T, Mihara K, Kawata J, [Kimura H](#), \*[Saitoh H](#). *Anal Biochem.* 466, 1-3.
64. Hierarchical molecular events driven by oocyte-specific factors lead to rapid and extensive reprogramming (2014) Jullien J, Miyamoto K, Pasque V, Allen GE, Bradshaw CR, Garrett NJ, Halley-Stott RP, [Kimura H](#), Ohsumi K, \*Gurdon JB. *Mol Cell.* 55, 524-536.
65. Nuclear dynamics of topoisomerase IIbeta reflects its catalytic activity that is regulated by binding of RNA to the C-terminal domain (2014)

- Onoda A, Hosoya O, Sano K, Kiyama K, [Kimura H](#), Kawano S, Furuta R, Miyaji M, Tsutsui K, \*Tsutsui KM. *Nucleic Acids Res.* 42, 9005-9020.
66. Loss of histone H4K20 trimethylation predicts poor prognosis in breast cancer and is associated with invasive activity (2014) Yokoyama Y, Matsumoto A, \*Hieda M, Shinchi Y, Ogihara E, Hamada M, Nishioka Y, [Kimura H](#), Yoshidome K, Tsujimoto M, Matsuura N. *Breast Cancer Res.* 16, R66.
67. Nucleosomal regulation of chromatin composition and nuclear assembly revealed by histone depletion (2014) \*Zierhut C, Jenness C, [Kimura H](#), \*Funabiki H. *Nat Struct Mol Biol.* 21, 617-625.
68. Direct evidence for pitavastatin induced chromatin structure change in the KLF4 gene in endothelial cells (2014) Maejima T, Inoue T, Kanki Y, Kohro T, Li G, Ohta Y, \*[Kimura H](#), Kobayashi M, Taguchi A, Tsutsumi S, Iwanari H, Yamamoto S, Aruga H, Dong S, Stevens JF, Poh HM, Yamamoto K, Kawamura T, Mimura I, Suehiro J, Sugiyama A, Kaneki K, Shibata H, Yoshinaka Y, Doi T, Asanuma A, Tanabe S, Tanaka T, Minami T, Hamakubo T, Sakai J, Nozaki N, Aburatani H, Nangaku M, Ruan X, Tanabe H, Ruan Y, Ihara S, Endo A, \*Kodama T, \*Wada Y. *PLoS One.* 9, e96005.
69. ©Glycolytic genes are targets of the nuclear receptor Ad4BP/SF-1 (2014) Baba T, Otake H, Sato T, Miyabayashi K, Shishido Y, Wang CY, Shima Y, [Kimura H](#), Yagi M, Ishihara Y, Hino S, Ogawa H, Nakao M, Yamazaki T, Kang D, [Ohkawa Y](#), Suyama M, Chung BC, \*Morohashi K. *Nat Commun.* 5, 3634.
70. NEAT1 long noncoding RNA regulates transcription via protein sequestration within subnuclear bodies (2014) \*Hirose T, Virnicchi G, Tanigawa A, Naganuma T, Li R, [Kimura H](#), Yokoi T, Nakagawa S, Benard M, \*Fox AH, \*Pierron G. *Mol Biol Cell.* 25, 169-183.
71. ©Heterochromatin dynamics during the differentiation process revealed by the DNA methylation reporter mouse, MethylRO (2014) Ueda J, Maehara K, Mashiko D, Ichinose T, Yao T, Hori M, Sato Y, [Kimura H](#), [Ohkawa Y](#), \*Yamagata K. *Stem Cell Reports.* 2, 910-924.
72. Improved and robust detection of cell nuclei from four dimensional fluorescence images (2014) \*Bashar MK, [Yamagata K](#), Kobayashi TJ. *PLoS One.* 9, e101891.
73. ©Externally Controllable Molecular Communication Systems for Pattern Formation (2014) \*Nakano T, Kobayashi S, Suda T, Okaie Y, [Hiraoka Y](#), [Haraguchi T](#). *IEEE J. Sel. Areas Commun.* 32, 2417-2431.
74. Meiotic nuclear movements in fission yeast are regulated by the transcription factor Mei4 downstream of a Cds1-dependent replication checkpoint pathway (2015) Ruan K, Yamamoto TG, [Asakawa H](#), Chikashige Y, Masukata H, [Haraguchi T](#), \*[Hiraoka Y](#). *Genes Cells.* 20, 160-172.
75. ©Fluorescence correlation spectroscopy with visible-wavelength superconducting nanowire single-photon detector (2014) \*Yamashita T, Liu D, Miki S, Yamamoto J, [Haraguchi T](#), Kinjo M, [Hiraoka Y](#), Wang Z, Terai H. *Opt Express.* 22, 28783-28789.
76. Chromosomes rein back the spindle pole body during horsetail movement in fission yeast meiosis (2014) Chikashige Y, Yamane M, Okamasu K, Mori C, Fukuta N, Matsuda A, [Haraguchi T](#), \*[Hiraoka Y](#). *Cell Struct Funct.* 39, 93-100.
77. ©Deficiency of a lipid droplet protein, perilipin 5, suppresses myocardial lipid accumulation, thereby preventing type 1 diabetes-induced heart malfunction (2014) Kuramoto K, Sakai F, Yoshinori N, Nakamura TY, Wakabayashi S, Kojidani T, [Haraguchi T](#), Hirose F, \*Osumi T. *Mol Cell Biol.* 34, 2721-2731.
78. ©Characterization of nuclear pore complex components in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* (2014) [Asakawa H](#), Yang HJ, Yamamoto TG, Ohtsuki C, Chikashige Y, [Sakata-Sogawa K](#), [Tokunaga M](#), Iwamoto M, \*[Hiraoka Y](#), \*[Haraguchi T](#). *Nucleus.* 5: 149-162.
79. Non-destructive handling of individual chromatin fibers isolated from single cells in a microfluidic device utilizing an optically driven microtool (2014) \*[Oana H](#), Nishikawa K, Matsuhara H, Yamamoto A, Yamamoto TG, [Haraguchi T](#), [Hiraoka Y](#), Washizu M. *Lab Chip.* 14, 696-704.
80. ©A facile preparation of glass-supported lipid bilayers for analyzing molecular dynamics (2014) Ito Y, [Sakata-Sogawa K](#), \*[Tokunaga M](#). *Anal Sci.* 30, 1103-1106.
81. ©Transcriptional program of Kpna2/Importin-alpha2 regulates cellular differentiation-coupled circadian clock development in mammalian cells (2014) Umemura Y, Koike N, Matsumoto T, Yoo SH, Chen Z, [Yasuhara N](#), \*Takahashi JS, \*Yagita K. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111, E5039-5048.
82. ©Structural basis for the selective nuclear import of the C2H2 zinc-finger protein Snail by importin beta (2014) Choi S, Yamashita E, [Yasuhara N](#), Song J, Son SY, Won YH, Hong HR, Shin YS, Sekimoto T, Park IY, \*[Yoneda Y](#), \*Lee SJ. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 70, 1050-1060.
83. The role of Importin-betas in the maintenance and lineage commitment of mouse embryonic stem cells (2014) Sangel P, [Oka M](#), \*[Yoneda Y](#). *FEBS Open Bio.* 4, 112-120.
84. ©Computational image analysis of colony and nuclear morphology to evaluate human induced pluripotent stem cells (2014) [Tokunaga K](#), \*[Saitoh N](#), Goldberg IG, Sakamoto C, Yasuda Y, Yoshida Y, Yamanaka S, \*Nakao M. *Sci Rep.* 4, 6996.
85. ©SWR1 and INO80 chromatin remodelers contribute to DNA double-strand break perinuclear anchorage site choice (2014) Horigome C, Oma Y, Konishi T, Schmid R, Marcomini I, Hauer MH, Dion V, [Harata M](#), \*Gasser SM. *Mol Cell.* 55, 626-639.
86. Nuclear actin filaments recruit cofilin and actin-related protein 3, and their formation is connected with a mitotic block (2014) Kalendova A, Kalasova I, Yamazaki S, Ulicna L, [Harata M](#), \*Hozak P. *Histochem Cell Biol.* 142, 139-152.
87. ©Reorganization of damaged chromatin by the exchange of histone variant H2A.Z-2 (2014) Nishibuchi I, Suzuki H, Kinomura A, Sun J, Liu NA, Horikoshi Y, Shima H, Kusakabe M, [Harata M](#), Fukagawa T, [Ikura T](#), Ishida T, Nagata Y, \*[Tashiro S](#). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 89, 736-744.
88. Improvement of the transformation efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* by altering carbon sources in pre-culture (2014) Konishi T. \*[Harata M](#). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* 78, 1090-1093.
89. Possible involvement of LKB1-AMPK signaling in non-homologous end joining (2014) Ui A, Ogiwara H, Nakajima S, [Kanno S](#), Watanabe R, [Harata M](#), Okayama H, Harris CC, Yokota J, [Yasui A](#), \*Kohno, T. *Oncogene* 33, 1640-1648.
90. ©Incorporation of histone H3.1 suppresses the lineage potential of skeletal muscle (2015) Harada A, Maehara K, Sato Y, Konno D, Tachibana T, [Kimura H](#), \*[Ohkawa Y](#). *Nucleic Acids Res.* 43, 775-786.
91. ©Interleukin-10-producing plasmablasts exert regulatory function in autoimmune inflammation (2014) Matsumoto M, Baba A, Yokota T, Nishikawa H, [Ohkawa Y](#), Kayama H, Kallies A, Nutt S.L, Sakaguchi S, Takeda K, \*Kurosaki T, \*Baba Y. *Immunity.* 41, 1040-1051.
92. ©A genome-wide analysis identifies a notch-RBP-Jkappa-IL-7/Ralpha axis that controls IL-17-producing gammadelta T cell homeostasis in mice (2015) Nakamura M, Shibata K, Hatano S, Sato T, [Ohkawa Y](#), Yamada H, Ikuta K, \*Yoshikai Y. *J Immunol.* 194, 243-251.
93. ©SraTailor: graphical user interface software for processing and visualizing ChIP-seq data (2014) \*Oki S, Maehara K, [Ohkawa Y](#), \*Meno C. *Genes Cells.* 19, 919-926.
94. ©Acute hyperglycemia impairs functional improvement after spinal cord injury in mice and humans (2014) Kobayakawa K, Kumamaru H, Saiwai H, Kubota K, [Ohkawa Y](#), Kishimoto J, Yokota K, Ideta R, Shiba K, Tozaki-Saitoh H, Inoue K, Iwamoto Y, \*Okada S. *Sci Transl Med.* 6, 256ra137.
95. ©Establishment of neutralizing rat monoclonal antibodies for fibroblast growth factor-2 (2014) Tanaka M, Yamaguchi M, \*Shiota M, Kawamoto Y, Takahashi K, Inagaki A, Osada-Oka M, Harada A, Wanibuchi H, Izumi Y, Miura K, Iwao H, [Ohkawa Y](#). *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother.* 33, 261-269.
96. ©Genome-wide analysis of histone modifications in human endometrial stromal cells (2014) Tamura I, [Ohkawa Y](#), Sato T, Suyama M, Jozaki K, Okada M, Lee L, Maekawa R, Asada H, Sato S, Yamagata Y, Tamura H, \*Sugino N. *Mol Endocrinol.* 28, 1656-1669.
97. ©Identification of myelin transcription factor 1 (MyT1) as a subunit of the neural cell type-specific lysine-specific demethylase 1 (LSD1) complex (2014) \*Yokoyama A, Igarashi K, Sato T, Takagi K, Otsuka IM, Shishido Y, Baba T, Ito R, Kanno J, [Ohkawa Y](#), Morohashi K, Sugawara A. *J Biol Chem.* 289, 18152-18162.
98. ©Hsc70 contributes to cancer cell survival by preventing Rab1A degradation under stress conditions (2014) Tanaka M, Mun S, Harada A,

Ohkawa Y, Inagaki A, Sano S, Takahashi K, Izumi Y, Osada-Oka M, Wanibuchi H, Yamagata M, Yukimura T, Miura K, \*Shiota M, Iwao H. *PLoS One*. 9, e96785.

99. Sufficient amounts of functional HOP2/MND1 complex promote interhomolog DNA repair but are dispensable for intersister DNA repair during meiosis in Arabidopsis (2013) Uanschou C, Ronceret A, Von Harder M, De Muyst A, Vezon D, Pereira L, Chelysheva L, Kobayashi W, Kurumizaka H, \*Schlögelhofer P, Grelon M. *Plant Cell* 25, 4924-4940.
100. Structural basis of a nucleosome containing histone H2A.B/H2A.Bbd that transiently associates with reorganized chromatin (2013) Arimura Y, \*Kimura H, Oda T, Sato K, Osakabe A, Tachiwana H, Sato Y, Kinugasa Y, Ikura T, Sugiyama M, Sato M, \*Kurumizaka H. *Sci Rep*. 3, 3510.
101. Structural polymorphism in the L1 loop regions of human H2A.Z.1 and H2A.Z.2 (2013) Horikoshi N, Sato K, Shimada K, Arimura Y, Osakabe A, Tachiwana H, Hayashi-Takanaka Y, Iwasaki W, Kagawa W, Harata M, Kimura H, \*Kurumizaka H. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 69, 2431-2439.
102. Contribution of histone N-terminal tails to the structure and stability of nucleosomes (2013) Iwasaki W, Miya Y, Horikoshi N, Osakabe A., Taguchi H, Tachiwana H, Shibata T, Kagawa W, \*Kurumizaka H. *FEBS Open Bio*. 3, 363-369.
103. Homologous pairing activities of two rice RAD51 proteins, RAD51A1 and RAD51A2 (2013) Morozumi Y, Ino R, Ikawa S, Mimida N, Shimizu T, Toki S, Ichikawa H, Shibata T, \*Kurumizaka H. *PLoS One*. 8, e75451.
104. Activation of the SUMO modification system is required for the accumulation of RAD51 at sites of DNA damage (2013) Shima H, Suzuki H, Sun J, Kono K, Shi L, Kinomura A, Horikoshi Y, Ikura T, Ikura M, Kanaar R, Igarashi K, Saitoh H, Kurumizaka H, \*Tashiro S. *J Cell Sci*. 126, 5284-5292.
105. Dissociation free-energy profiles of specific and nonspecific DNA-protein complexes (2013) \*Yonetani Y, \*Kono H. *J Phys Chem B*. 117, 7535-7545.
106. Human origin recognition complex binds preferentially to G-quadruplex-preferable RNA and single-stranded DNA (2013) Hoshina S, Yura K, Teranishi H, Kiyasu N, Tominaga A, Kadoma H, Nakatsuka A, Kunichika T, Obuse C, \*Waga, S., *J Biol Chem*. 288, 30161-30171.
107. Myelodysplastic syndromes are induced by histone methylation-altering ASXL1 mutations (2013) Inoue D, Kitaura J, Togami K, Nishimura K, Enomoto Y, Uchida T, Kagiya Y, Kawabata KC, Nakahara F, Izawa K, Oki T, Maehara A, Isobe M, Tsuchiya A, Harada Y, Harada H, Ochiya T, Aburatani H, Kimura H, Thol F, Heuser M, Levine RL, Abdel-Wahab O, \*Kitamura T. *J Clin Invest*. 123, 4627-4640.
108. JMJD1C, a JmjC domain-containing protein, is required for long-term maintenance of male germ cells in mice (2013) Kuroki S, Akiyoshi M, Tokura M, Miyachi H, Nakai Y, Kimura H, Shinkai Y, \*Tachibana M. *Biol Reprod*. 89, 93.
109. Epigenetics of eu- and heterochromatin in inverted and conventional nuclei from mouse retina (2013) Eberhart A, Feodorova Y, Song C, Wanner G, Kiseleva E, Furukawa T, Kimura H, Schotta G, Leonhardt H, Joffe B, \*Solovei I. *Chromosome Res*. 21, 535-554.
110. Enhanced chromatin dynamics by FACT promotes transcriptional restart after UV-induced DNA damage (2013) Dinant C, Ampatzidis-Michailidis G, Lans H, Tresini M, Lagarou A, Grosbart M, Theil AF, van Cappellen WA, Kimura H, Bartek J, Foustier M, \*Houtsmuller AB, \*Vermeulen W, \*Marteijn JA. *Mol Cell*. 51, 469-479.
111. Redistribution of the Lamin B1 genomic binding profile affects rearrangement of heterochromatic domains and SAHF formation during senescence (2013) Sadaie M, Salama R, Carroll T, Tomimatsu K, Chandra T, Young AR, Narita M, Pérez-Mancera PA, Bennett DC, Chong H, Kimura H, \*Narita M. *Genes Dev*. 27, 1800-1808.
112. In aggressive variants of non-Hodgkin lymphomas, Ezh2 is strongly expressed and polycomb repressive complex PRC1.4 dominates over PRC1.2 (2013) Abd Al Kader L, \*Oka T, Takata K, Sun X, Sato H, Murakami I, Toji T, Manabe A, Kimura H, Yoshino T, *Virchows Arch*. 463, 697-711.
113. Genetically encoded system to track histone modification in vivo (2013) Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M, Stasevich T J, Horikoshi N, Kujirai T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, Obuse C, Kurumizaka H, Kawahara A, Yamagata K, Nozaki N, Kimura H. *Sci Rep*. 3, 2436.
114. Latrunculin A treatment prevents abnormal chromosome segregation for successful development of cloned embryos (2013) \*Terashita Y, Yamagata K, Tokoro M, Itoi F, Wakayama S, Li C, Sato E, Tanemura K, \*Wakayama T. *PLoS One*. 8, e78380.
115. Puromycin resistance gene as an effective selection marker for ciliate Tetrahymena (2014) Iwamoto M, Mori C, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. *Gene*. 534, 249-255.
116. The role of chromosomal retention of noncoding RNA in meiosis (2013) Ding DQ, Haraguchi T, \*Hiraoka Y. *Chromosome Res*. 21, 665-672.
117. Recruitment of the autophagic machinery to endosomes during infection is mediated by ubiquitin (2013) Fujita N, Morita E, Itoh T, Tanaka A, Nakaoka M, Osada Y, Umemoto T, Saitoh T, Nakatogawa H, Kobayashi S, Haraguchi T, Guan JL, Iwai K, Tokunaga F, Saito K, Ishibashi K, Akira S, Fukuda M, \*Noda T, \*Yoshimori T. *J Cell Biol*. 203, 115-128.
118. Generation of a monoclonal antibody for IN11/hSNF5/BAF47 (2014) Harada A, Hayashi M, Kuniyoshi Y, Semba Y, Sugahara S, Tachibana T, \*Ohkawa Y, Fujita M. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*. 33, 49-51.
119. Production of a monoclonal antibody for C/EBPbeta: the subnuclear localization of C/EBPbeta in mouse L929 cells (2014) Harada A, Okazaki E, Okada S, Tachibana T, \*Ohkawa Y. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*. 33, 34-37.
120. The PPARgamma locus makes long-range chromatin interactions with selected tissue-specific gene loci during adipocyte differentiation in a protein kinase A dependent manner (2014) LeBlanc SE, Wu Q, Barutcu AR, Xiao H, Ohkawa Y, \*Imbalzano AN. *PLoS One*. 9, e86140.

【主な論文、公募研究】すべて査読あり

121. A novel anti-microtubule agent with carbazole and benzohydrazide structures suppresses tumor cell growth in vivo (2015) Ohira M, Iwasaki Y, Tanaka C, Kuroki M, Matsuo N, Kitamura T, Yukuhiro M, Morimoto H, Pang N, Liu B, Kiyono T, Amemiya M, Tanaka K, Yoshida K, Sugimoto N, Ohshima T, Fujita M. *Biochim Biophys Acta*. 1850, 1676-1684.
122. Chromokinesin Kid and kinetochore kinesin CENP-E differentially support chromosome congression without end-on attachment to microtubules (2015) Iemura K, \*Tanaka K. *Nat Commun*. 6, 6447.
123. Fission yeast Scp3 potentially maintains microtubule orientation through bundling (2015) Ozaki K, Chikashige Y, Hiraoka Y, \*Matsumoto T. *PLoS One* 10, e0120109.
124. ©Structural basis for ubiquitin recognition by ubiquitin-binding zinc finger of FAAP20 (2015) Toma A, Takahashi TS, Sato Y, Yamagata A, Goto-Ito S, Nakada S, Fukuto A, Horikoshi Y, Tashiro S, Fukai S. *PLoS One*. 10, e0120887.
125. The international nucleome consortium (2015) \*Tashiro S, \*Lancot C. *Nucleus*. 6, 89-92.
126. Fluorometric assay for phenotypic differentiation of drug-resistant HIV mutants (2015) Zhu Q, Yu Z, Kobashima T, Yin S, Dragusha S, El-Mahdy AF, Ejupi V, Shibata T, \*Kai M. *Sci Rep*. 5, 10323.
127. Spectrofluorometric Assays of Human Collagenase Activity Using Native Collagen and Acetyl-Peptide Substrates (2015) Ejupi V, Dragusha S, Kabashima T, Zhu Q, El-Mahdy AFM, Yin S, Shibata T, \*Kai M. *Advances in Enzyme Research*. 3, 19-29.
128. Sensitive and selective determination of peptides, PG and PGP, using a novel fluorogenic reagent 4-chlorobenzene-1,2-diol (2015) Yasmin H, Rahman MS, Shibata T, Kabashima T, \*Kai M. *Chemical Papers*. 69, 504-509.
129. Delivery of siRNA using siRNA/cationic vector complexes encapsulated in dendrimer-like polymeric DNAs (2015) \*El-Mahdy AFM, Shibata T, Kabashima T, Zhua Q, \*Kai M. *RSC Advances*. 5, 32775-32785.
130. Facile preparation of streptavidin-coated sephadex beads and their application to chemiluminescence detection of a target DNA (2015) El-Mahdy AFM, Ejupi V, Shibata T, Kabashima T, Lu J, \*Kai M. *Microchim Acta*. 182, 495-503.

131. Chemiluminescence-imaging detection of DNA on a solid-phase membrane by using a peroxidase-labeled macromolecular probe (2015) Azam MG, Yamasuji M, Krawczyk T, Shibata T, Kabashima T, \*Kai M. *Talanta*. 139, 138-142.
132. Serum-removal induces adhesion of human myeloid HL-60 cells: A convenient technique to fix suspension cells on a coverslip for microscopy (2015) Mihara K, Nakayama T, \*Saitoh H. *Curr. Protocol in Cell Biol.* in press
133. SUMOylation of xeroderma pigmentosum group C protein regulates DNA damage recognition during nucleotide excision repair (2015) Akita M, Tak YS, Shimura T, Matsumoto S, Okuda-Shimizu Y, Shimizu Y, Nishi R, Saitoh H, Iwai S, Mori T, Ikura T, Sakai W, Hanaoka F, \*Sugasawa K. *Sci Rep.* 5, 10984.
134. Abacavir, an anti-HIV-1 drug, targets TDP1-deficient adult T cell leukemia (2015) Tada K, Kobayashi M, Takiuchi Y, Iwai F, Sakamoto T, Nagata K, Shinohara M, Io K, Shirakawa K, Hishizawa M, Shindo K, Kadowaki N, Hirota K, Yamamoto J, Iwai S, Sasanuma H, Takeda S, \*Takaori-Kondo A. *SCIENCE ADVANCES* 01, e1400203
135. Rad18 and Rnf8 facilitate homologous recombination by two distinct mechanisms, promoting Rad51 focus formation and suppressing the toxic effect of nonhomologous end joining (2014) Kobayashi S, Kasaishi Y, Nakada S, Takagi T, Era S, Motegi A, Chiu RK, Takeda S, \*Hirota K. *Oncogene*. in press
136. Development of a targeted flip-in system in avian DT40 cells (2015) Kobayashi K, Fujii T, Asada R, Ooka M, \*Hirota K. *PLoS One*. 10, e0122006.
137. The POLD3 subunit of DNA polymerase delta can promote translesion synthesis independently of DNA polymerase zeta (2015) Hirota K, Yoshikiyo K, Guilbaud G, Tsurimoto T, Murai J, Tsuda M, Phillips LG, Narita T, Nishihara K, Kobayashi K, Yamada K, Nakamura J, Pommier Y, Lehmann A, \*Sale JE, \*Takeda S. *Nucleic Acids Res.* 43, 1671-1683.
138. Antagonistic controls of chromatin and mRNA start site selection by Tup family corepressors and the CCAAT-binding factor (2015) Asada R, Takemata N, Hoffman CS, Ohta K, \*Hirota K. *Mol Cell Biol.* 35, 847-855.
139. Fidelity consequences of the impaired interaction between DNA polymerase epsilon and the GINS complex (2015) Garbacz M, Araki H, Flis K, Bebenek A, Zawada AE, Jonczyk P, \*Makiela-Dzbenka K, \*Fijalkowska IJ. *DNA Repair (Amst)*. 29, 23-35.
140. Esco1 acetylates cohesin via a mechanism different from that of Esco2 (2015) Minamino M, Ishibashi M, Nakato R, Akiyama K, Tanaka H, Kato Y, Negishi L, Hirota T, Sutani T, Bando M, \*Shirahige K. *Curr. Biol.* in press.
141. Reconstitution of mitotic chromatids with a minimum set of purified factors (2015) Shintomi K, Takahashi TS, \*Hirano T. *Nat Cell Biol.* in press
142. ©Structural and functional analysis of Hikeshi, a new nuclear transport receptor of Hsp70s (2015) Song J, \*Kose S, Watanabe A, Son S Y, Choi S, Hong H, Yamashita E, Park I Y, Imamoto N, \*Lee S J. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 71, 473-483.
143. CLIP-170 recruits PLK1 to kinetochores during early mitosis for chromosome alignment (2014) \*Amin M.A, Ito G, Iemura K, Ikedo M, \*Tanaka K. *J Cell Sci.* 127, 2818-2824.
144. DBTMEE: a database of transcriptome in mouse early embryos (2015) Park S.J, Shirahige K, Ohsugi M, \*Nakai K. *Nucleic Acids Res.* 43, D771-776.
145. ©The transcription repressors Bach2 and Bach1 promote B cell development by repressing the myeloid program (2014) Itoh-Nakadai A, Hikota R, Muto A, Kometani K, Watanabe-Matsui M, Sato Y, Kobayashi M, Nakamura A, Miura Y, Yano Y, Tashiro S, Sun J, Ikawa T, Ochiai K, Kurosaki T, \*Igarashi K. *Nat Immunol.* 15, 1171-1180.
146. ©Smoking cessation reverses DNA double-strand breaks in human mononuclear cells (2014) Ishida M, \*Ishida T, Tashiro S, Uchida H, Sakai C, Hironobe N, Miura K, Hashimoto Y, Arihiro K, Chayama K, Kihara Y, Yoshizumi M. *PLoS One.* 9, e103993.
147. X chromosome reactivation dynamics reveal stages of reprogramming to pluripotency (2014) Pasque V, Tchieu J, Karnik R, Uyeda M, Sadhu Dimashkie A, Case D, Papp B, Bonora G, Patel S, Ho R, Schmidt R, McKee R, Sado T, Tada T, Meissner A, \*Plath K, *Cell.* 159, 1681-1697.
148. ©Carbon nanofiber-based luminol-biotin probe for sensitive chemiluminescence detection of protein (2014) Baj S, \*Krawczyk T, Pradel N, Azam M.G, Shibata T, Dragusha S, Skutil K, Pawlyta M, Kai M. *Anal Sci.* 30, 1051-1056.
149. Amplified and selective assay of collagens by enzymatic and fluorescent reactions (2014) Yasmin H, Kabashima T, Rahman M.S, Shibata T, \*Kai M. *Sci Rep.* 4, 4950.
150. SUMO-2/3 and RNF4 localization to DNA replication foci in cultured human cells overexpressing the p150 subunit of chromatin assembly factor 1 (2014) Yuasa E, \*Saitoh H. *Aperito J. Cell. Mol. Biol.* 1, 1.
151. Effect of Atmospheric-Pressure Helium Plasma Jet on Cell Culture Medium (2014) Takamura N, Wang D, Satoh T, Namihira T, Saitoh H, \*Akiyama H. *Electronics and Communications in Japan.* 97, 65-73.
152. Tunicamycin-induced neutrophil extracellular trap (NET)-like structures in cultured human myeloid cell lines (2014) Nakayama T, \*Saitoh H. *Cell Biol Int.* 39, 355-359.
153. RNA cytidine acetyltransferase of small-subunit ribosomal RNA: identification of acetylation sites and the responsible acetyltransferase in fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe* (2014) \*Taoka M, Ishikawa D, Nobe Y, Ishikawa H, Yamauchi Y, Terukina G, Nakayama H, Hirota K, Takahashi N, \*Isobe T. *PLoS One.* 9, e112156.
154. RNase MRP cleaves pre-tRNA<sup>Ser-Met</sup> in the tRNA maturation pathway (2014) Saito Y, Takeda J, Adachi K, Nobe Y, Kobayashi J, Hirota K, Oliveira DV, Taoka M, \*Isobe T. *PLoS One.* 9, e112488.
155. SUMO-targeted ubiquitin ligase RNF4 plays a critical role in preventing chromosome loss (2014) Hirota K, Tsuda M, Murai J, Takagi T, Keka IS, Narita T, Fujita M, Sasanuma H, Kobayashi J, \*Takeda S. *Genes Cells.* 19, 743-754.
156. ©Evolution of pre-existing versus acquired resistance to platinum drugs and PARP inhibitors in BRCA-associated cancers (2014) Yamamoto KN, Hirota K, Takeda S, \*Haeno H. *PLoS One.* 9, e105724.
157. ©Molecular basis for SMC rod formation and its dissolution upon DNA binding (2015) Soh YM, Burmann F, Shin HC, Oda T, Jin KS, Toseland CP, Kim C, Lee H, Kim SJ, Kong MS, Durand-Diebold ML, Kim YG, Kim HM, Lee NK, Sato M, Oh BH, Gruber S. *Mol Cell.* 57, 290-303.
158. ©Crystal structure of the homology domain of the eukaryotic DNA replication proteins Sld3/Treslin (2014) \*Itou H, Muramatsu S, Shirakihara Y, \*Araki H. *Structure.* 22, 1341-1347.
159. ©Analytic 3D imaging of mammalian nucleus at nanoscale using coherent x-rays and optical fluorescence microscopy (2014) \*Song C, Takagi M, Park J, Xu R, Gallagher-Jones M, Imamoto N, Ishikawa T. *Biophys J.* 107, 1074-1081.
160. Ki67 antigen contributes to the timely accumulation of protein phosphatase 1gamma on anaphase chromosomes (2014) Takagi M, Nishiyama Y, Taguchi A, \*Imamoto N. *J Biol Chem.* 289, 22877-22887.
161. Ki-67 is a PPI-interacting protein that organises the mitotic chromosome periphery (2014) Booth DG, Takagi M, Sanchez-Pulido L, Petfalski E, Vargiu G, Samejima K, Imamoto N, Ponting CP, Tollervy D, \*Earnshaw WC, \*Vagnarelli P. *Elife.* 3, e01641.
162. The Schizosaccharomyces pombe Hikeshi/Opi10 protein has similar biochemical functions to its human homolog but acts in different physiological contexts (2014) Oda Y, Kimura M, Kose S, Fasken MB, Corbett AH, \*Imamoto N. *FEBS Lett.* 588, 1899-1905.

## 【書籍】

胡桃板仁志：ナノ学会会報、2015、p.3-7；構造生命科学で何がわかるのか、何ができるのか、2014、羊土社、p.216-220；実験医学、2014、羊土社、p.2058-2063；染色体と細胞核のダイナミクス、2013、化学同人、p.19-48；がん基盤生物学、2013、南

山堂、p.179-184; エピジェネティクスキーワード事典、2013、羊土社、p.85-88; 基礎コース 細胞生物学、2013、東京化学同人、p.45-55

原口徳子: 染色体と細胞核のダイナミクス、2013、化学同人、(編者)全 224 ページ、(著者)p.1-7、p.129-145; 光アライアンス、2014、日本工業出版、p.31-35

木村宏: 実験医学、2014、p.2087-2091; エピジェネティクスと病気、2013、メディカルドゥ、p.247-253; エピジェネティクスキーワード事典、2013、羊土社、p.275-281; 染色体と細胞核のダイナミクス、2013、化学同人、p.19-50; エピジェネティクスの産業応用、2014、シーエムシー出版

徳永万喜洋: 1分子生物学、2014、化学同人、p.215-227、補足1-15

米田悦啓: 生命科学から創薬へのイノベーション、2014、南山堂、p.3-6; プログレッシブ 生命科学、2014、南山堂、p.1-8、51-53

斉藤典子: バイオ画像解析 手とり足とりガイド、2014、羊土社、p.195-207; 病理と臨床、文光堂、2014、p.789-795; エピジェネティクスキーワード事典、2013、羊土社、p.91-98; 染色体と細胞核のダイナミクス、2013、化学同人、p.147-165

大川恭行: 実験医学、2015、羊土社、p.481-489; 実験医学、2014、p.2064-2069; 実験医学、2013、羊土社、p.2083-2088

小布施力史: エピジェネティクスの産業応用、2014、シーエムシー出版; 実験医学、2013、羊土社、p.1771-1775

山縣一夫: 実験医学、2015、羊土社、p.481-489; 医学のあゆみ、2015、医歯薬出版株式会社、p.523-524

原田昌彦: 染色体と細胞核のダイナミクス、2013、化学同人、p.169-183; ベーシックマスター分子生物学(改訂版)、2013、オーム社、p.216-241

佐渡敬: ベーシックマスター 分子生物学(改訂2版)、2014、オーム社、p.349-371

## 【ホームページ、ニュースレター】

新学術領域「動的クロマチン構造と機能」 <http://nucleosome.kyushu-u.ac.jp>

ニュースレター

2013年: No.1(8月19日)、No.2(9月25日)、No.3(11月11日)、No.4(12月24日)

2014年: No.5(2月6日)、No.6(3月31日)、No.7(4月28日)、No.8(6月23日)、No.9(9月16日)、No.10(11月10日)

2015年: No.11(1月5日)、No.12(4月13日)

## 【主催シンポジウム】

International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics, and Function、2015年8月23-26日(予定)、淡路夢舞台、兵庫県

第3回「クロマチン動構造」若手の会、2015年7月29日(予定)、早稲田大学先端生命医科学センター、東京都

第3回班会議、2015年5月7-9日、ルスツリゾート、北海道

DNA ダイナミクスと遺伝情報の維持機構、2015年3月7日、早稲田大学大隈会館、東京都

一般公開シンポジウム「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」、2015年1月12日、千里ライフサイエンスセンタ、大阪府

第87回日本生化学会大会、2014年10月15-18日、国立京都国際会館、京都府

クロマチン研究最前線、2014年8月1日、大阪大学生命科学図書館、大阪府

第52回日本生物物理学会年会、2014年9月25-27日、札幌コンベンションセンター、北海道

一般公開シンポジウム「DNA をあやつる生物のしくみ」、2014年8月25日、千里ライフサイエンスセンタ、大阪府

第2回班会議、2014年7月3-5日、サホロリゾート、北海道

第2回「クロマチン動構造」若手の会、2014年7月2-3日、サホロリゾート、北海道

第14回日本蛋白質科学会年会、2014年6月25-27日、ワークピア横浜、神奈川県

第1回「クロマチン動構造」若手の会、2013年12月7日、早稲田大学先端生命医科学センター、東京都

第1回班会議、2013年8月1日、大阪大学コンベンションセンター大会議室、大阪府

## 【アウトリーチ活動】

胡桃坂仁志: (講師)東京都立多摩技術高等学校、広島県立呉三津田高等学校、同志社女子高等学校、(講演)東進ハイスクール 大学学部研究会2013、その他10件

原口徳子: (主催及び講師)第23回細胞生物学ワークショップ、第21回細胞生物学ワークショップ、(講師)第6回光塾、第24回電頭サマースクール、その他4件、(講演)一般公開シンポジウム「DNA をあやつる生物のしくみ」

木村宏: (講師)第24回細胞生物学ワークショップ、第2回国際イメージングワークショップ(産総研)、その他4件、(講演)株リバネス バイオガレージセミナーVol.3、その他2件

河野秀俊: (講師)実験とバイオインフォマティクスの協奏による構造生命科学、(講演)名古屋大学シンポジウム、一般公開シンポジウム「DNA をあやつる生物のしくみ」

小布施力史: (講演)先端医療研究セミナー(シーズ公開会)、その他1件、(講師)北海道大学オープンキャンパス 高校生研究体験

斉藤典子: (講演)第193回 日本橋フォーラム 「細胞の初期化と細胞核構造」、その他1件

堀哲也: (講演)一般公開シンポジウム「DNA をあやつる生物のしくみ」

原田昌彦: (講師)東北放射光シンポジウム、みやぎ県民大学、長野県立長野高校 出前授業、長野県立諏訪清陵高校 進路講話

山縣一夫: (講師)「ケンビロー先生が帰ってきた!」、「ケンビロー先生がやってくる!」、(講演)一般公開シンポジウム「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」、その他1件

安原徳子: (講演)一般公開シンポジウム「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」

松本智裕: (講師)京都市立西京高等学校、膳所高等学校、熊谷女子高等学校、兵庫県立星陵高等学校、大阪信愛女学院、兵庫県立星陵高等学校、和歌山県立桐蔭中学校

広田亨: (講演)東京医科歯科大学連携大学院セミナー、東北大学大学院講義

平岡泰: (主催及び講師)第23回細胞生物学ワークショップ、第21回細胞生物学ワークショップ、(講師)第24回細胞生物学ワークショップ、第22回細胞生物学ワークショップ

新富圭史: (講演)一般公開シンポジウム「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」

加藤太陽: (講演)一般公開シンポジウム「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」

大杉美穂：(講演)第15回学習院大学生命科学シンポジウム「生命の秘密を解く鍵をもとめて」、その他1件  
小穴英廣：(講演)一般公開シンポジウム「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」

### 【マスメディア】

胡桃坂仁志：朝日新聞;2014年1月20日、化学工業日報;2013年12月17日  
原口徳子：科学新聞;2015年5月29日、日経産業新聞;2015年5月28日、朝日新聞;2015年5月25日、毎日新聞;2015年5月19日、日刊工業新聞;2015年5月19日、電波タイムズ;2015年5月19日、朝日デジタル;2015年5月25日、バイオインパクト;2015年5月25日、アピタル;2015年5月25日、msn ニュース;2015年5月25日、Yahoo!ニュース Japan;2015年5月19日、毎日新聞(web site);2015年5月19日、SEOTOOLS ニュース;2015年5月19日、日刊工業新聞(web site);2015年5月19日、四国新聞(web site);2015年5月19日、エキサイト;2015年5月19日、BizBuz;2015年5月19日、J-CAST ニュース;2015年5月19日、Mixi ニュース;2015年5月19日、Congoo News;2015年5月19日  
木村宏：化学工業日報;2014年12月17日、科学新聞;2014年10月3日、日経産業新聞;2014年9月30日、日経バイオテクオンライン;2014年9月22日、マイナビニュース;2014年8月27日、OPTRONICS オンライン;2014年8月26日、日刊工業新聞電子版;2014年8月23日、日経バイオテクオンライン;2014年8月14日  
山縣一夫：日経新聞;2015年1月18日、日経新聞;2014年7月8日、日経新聞;2014年6月17日、朝日新聞;2014年6月12日、日経バイオテクオンライン;2014年6月4日、産経新聞;2014年6月5日、刊工業新聞;2014年6月3日  
米田悦啓、安原徳子：産経新聞、日刊工業新聞、時事通信;2013年7月30日  
小布施力史：北海道医療新聞;2014年9月20日、2014年9月13日、2014年8月30日、2014年8月23日  
徳永万喜洋：日経産業新聞;2014年10月8日  
斉藤典子：熊本日新聞;2014年11月12日  
斉藤典子、大川恭行：熊本日新聞;2015年4月30日、毎日新聞;2015年5月1日、日刊工業新聞;2015年5月5日、産業新聞;2015年5月8日、KAB ニュース;2015年4月29日、NHK ニュース;2015年4月30日、RKK ニュース;2015年4月30日、日経電子版;2015年5月1日、福井新聞オンラインニュース;2015年4月29日

## 6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

### ●組織運営の方針

#### 組織構成と運営

「クロマチン動構造と機能」を理解するために、異なる手法（結晶構造解析、イメージング、プロテオミクス解析、ゲノム解析、シミュレーションなど）、研究対象（タンパク質、細胞、組織、個体など）、専門性（生化学、細胞生物学、構造学、物理学、情報科学など）をもつ研究者から成る、9つの計画研究課題を策定した（図2）。これらの計画研究課題は、それぞれ独立性を保ちつつも、「クロマチン動構造と機能の解明」というひとつの目標に向かって、ひとつのバーチャルラボラトリーのような形で研究活動を行っている。そのため、本領域では、項目分けをせず、全計画研究を、項目 A01 として組織した。平成 26 年度には、19 件の公募研究が項目 A01 に加わり、計画研究課題では不足していた手法（溶液での X 線・中性子散乱による構造解析など）や研究材料（RNA など）、専門性（遺伝学、医学など）を補填し、さらに充実した組織とした（p2-4, 研究組織）。また、これらの計画・公募研究を支援し、適切な助言や内部評価を行うための総括班を組織し、円滑な運営を実現している。

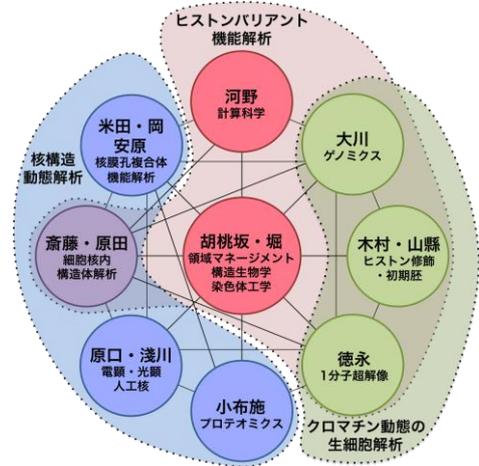


図2：計画研究の連携による研究体制

### 共同研究の推進

本研究領域では、目標達成のため、共同研究を円滑に進めることを特に重視している。そのために、各専門分野の研究者を計画研究課題に配置し、アイデアさえあれば、ただちに専門性の高い(時には高価で)特殊な装置(例えば、ライブセルイメージング装置、超分解を実現できる1分子イメージング装置、プロテオミクスに用いる質量分析装置、高速演算処理能力をもつコンピュータなど)や、専門性の

		計画班									
		胡桃坂	河野	小布施	木村	原口	徳永	米田	斎藤	大川	
計画班	胡桃坂	■									
	河野	■	■								
	小布施	■	■	■							
	木村	■	■	■	■						
	原口	■	■	■	■	■					
	徳永	■	■	■	■	■	■				
	米田	■	■	■	■	■	■	■			
	斎藤	■	■	■	■	■	■	■	■		
公募班	胡桃坂	■	5	0	0	1	2	0	0	1	0
	河野	■	1	1	3	0	1	0	1	1	3
	小布施	■	3	0	0	2	0	1	0	1	1
	木村	■	0	0	0	0	0	0	1	2	0

■ 発表論文あり  
 ■ 進行中  
 ■ 試料供与/受領  
 ■ 予定

図3：領域内の研究連携のまとめ

高い手法(再構成ヌクレオソーム、結晶構造解析、FRAP、分子・細胞イメージング、プロテオミクス、ゲノミクス、ノックアウトマウス作製、ハイコンテンツ画像解析、シミュレーションなど)を使えるように、研究体制を整えている。総括班の支援及び助言により、計画研究研究者らは、そのような有機的な連携を積極的に行っている。その結果、領域内共同研究の成果として、すでに 33 報の論文が出されているほか、現在、計画研究・公募研究を含めて、84 件の共同研究が進行中である(図3)。

### ●領域内共同研究

研究組織を整備し、領域全体がひとつのバーチャルラボラトリーとして活動できるように、情報の共有と発信を強化することによって、当初の予想を超える領域内共同研究や研究連携が行われている。図2は、共同研究・連携の状況を模式的に示したものである。以下に、計画研究を中心とした共同研究の例を示す。

- ① クロマチン動態の生細胞計測に関する研究は、木村・山縣を中心に領域内共同が進んでいる。木村は、

山縣、胡桃坂と共同して、Fab を用いたヒストン修飾可視化系を発展させたのに加え、遺伝子コード型ヒストン修飾検出プローブも開発した (Sato et al, *Sci Rep*, 2013; Hayashi-Takanaka et al, *PLoS One*, 2014; Kimura and Yamagata, *Meth Mol Biol*, 2015)。さらに木村は、徳永、大川との共同研究により、生細胞解析とエピゲノム解析を融合することで、ヒストン H3K27 アセチル化による転写活性化における意義を明らかにした (Stasevich et al, *Nature*, 2014)。また、山縣は、大川、木村との共同研究により DNA メチル化検出プローブ発現マウスを開発し、イメージングとエピゲノム解析への有用性を示した (Ueda et al, *Stem Cell Reports*, 2013)。

- ② 大川は、新規ヒストンバリエントを同定し、それらの新規のヒストンバリエントの機能解析に関して、胡桃坂、河野、木村、山縣、徳永、斉藤らとの連携により、それぞれ構造解析、構造予測、細胞生物学的解析、ノックアウトマウス作製、1分子動態解析、ハイコンテント画像解析によって、統合的かつ包括的に共同研究を展開している (Maehara et al, 投稿中; Urahama et al, 投稿中; Ueda et al, 投稿準備中)。
- ③ クロマチン動構造に関与する細胞核構造については、核膜、核膜孔複合体、核小体、核輸送因子について、多様な共同研究が行われ多くの成果を生んでいる。原口と浅川は、徳永と共同研究により分裂酵母核膜孔複合体を構成する全タンパク質を同定した (Asakawa et al, *Nucleus*, 2014) ほか、平岡と共に核膜孔タンパク質 Nup132 のセントロメア構造と機能への関与を明らかにした (Yang et al, リバイス中)。田代と原口は、核膜タンパク質ラミン B1 の DNA 修復における機能を明らかにした (Liu et al, *FEBS J*, 2015)。米田と岡は、大川、木村との共同研究により、白血病の原因となる異常な Nup98 が結合するクロマチン領域とその意義を明らかにした (Oka et al, 投稿中)。米田と安原は、大川、胡桃坂、小布施、木村、斉藤と共同で、Importin  $\alpha$  1 とクロマチンとの相互作用のメカニズム及び意義を明らかにした (投稿準備中)。斉藤は、大川との共同研究により、非コード RNA が形成する核内構造を新たに発見し、乳がんとの関連を明らかにした (Tomita et al, *Nature Comm*, 2015)。加えて、原口との共同研究により、核小体構造に関与する因子群を解明した (Matsumori et al, 投稿準備中)。

### ●研究支援活動

領域内研究の活性化と高度化のために、以下の研究支援活動を行った (図4)。

#### ・再構成クロマチン研究拠点

胡桃坂の研究室で確立された技術を用いて、多様なヒストンバリエントや修飾ヒストン等、及びそれらから再構成されたクロマチンを、領域内の 13 の研究者に供給した。再構成クロマチンは様々な解析に用いられている。

#### ・イメージング・画像解析拠点

原口と平岡は、蛍光顕微鏡の実機講習会として「細胞生物学ワークショップ」を開催し、木村と共に、若手研究者に技術指導を行った。木村が H25 年度に購入した共焦点顕微鏡は、胡桃坂、大川、斉藤らとの共同研究に用いられている。

#### ・ゲノミクス及びプロテオミクス

大川は、次世代シーケンサーによるゲノミクス解析を行っている。また、小布施は質量分析計を用いた微量タンパク質の同定・解析を、領域研究の支援として行ってきた。これまでに、堀、原口、原田、胡桃坂、木村、岡、安原、米田、斉藤らと共同研究を行い、多くの成果が得られつつある。

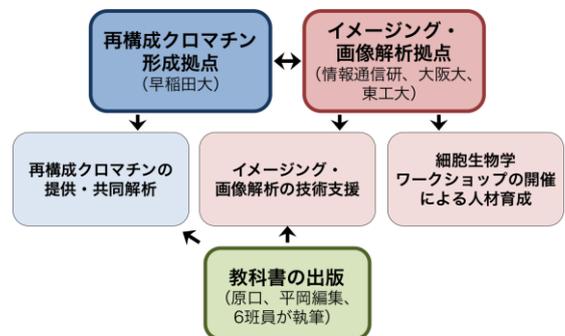


図4：領域内の研究支援活動



図5：解説書の表紙

また、本領域や関連分野の研究を支援すると共に大学生にも有益な解説書として「染色体と細胞核のダイナミクス」(平岡、原口編、化学同人)を出版した(図5)。原口、平岡、胡桃坂、木村、斉藤、原田の各領域メンバーが執筆に加わっている。

## 7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

領域内の若手研究者の育成に関わる取組として、以下を行っている。

### 若手研究者の会の発足

若手研究者の育成・研究水準の向上・及び領域内の共同研究の活性化を目的として、「クロマチン動構造若手研究者の会」を発足させた。若手の会は、現在60名の領域内若手研究者から構成され、全国28の研究機関に所属している。若手の会では、まず、ホームページ及びメーリングリストを設置することで、若手研究者間ネットワークを確立した。

### 若手の会によるシンポジウムの開催

本領域では若手の会が主催する研究会を2回開催し、若手研究者コミュニティー、及び若手研究者育成の基盤を確立した。2013年12月に早稲田大学(東京)で開催した第1回『クロマチン動構造』若手の会シンポジウムでは、海外の著名な研究室で活躍する若手研究者と、海外で研究室を主宰する日本人研究者を招聘し、シンポジウムを行った。若手の会を中心とする100名を超える参加者の中で、活発な議論が交わされた。この研究会では、世界トップレベルの独創的かつ先進的な解析手法が多く発表され、先駆的な研究に対する若手研究者の理解を増進できた。2014年7月にサホロリゾート(北海道)にて開催した第2回若手の会「クロマチン動構造 若手交流ワークショップ」では、公募研究者に所属する若手の会会員が新規に参入したことから、若手研究者間の相互理解の促進として各会員の研究発表が行われ、活発な議論が行われた。同研究会では、計画研究者の木村と山縣により、若手研究者に求められる研究者倫理教育、アカデミックライティング教育を行った。

### 蛍光イメージング法修得のための実機講習会の開催

細胞生物学ワークショップとして、顕微鏡技術の講義と、蛍光顕微鏡を用いた生細胞イメージングのための実機講習会を開催した。このワークショップは、国内外の大学院生や若手研究者を対象に、6日間/1回として開かれ、実践的な蛍光イメージング法・画像解析法の指導を行った。本領域の計画・公募研究代表者である原口・平岡が主催(第21回細胞生物学ワークショップ・2013年8月、第23回細胞生物学ワークショップ・2014年8月)あるいは共催(第22回細胞生物学ワークショップ・2014年12月)として開催し、計画研究代表者である木村も主な講師を務めている。この3回で、のべ約60名が受講するなど、若手の育成に貢献した。

### 次世代シーケンサー解析法修得のための講習会の開催

本領域では2014年3月に、次世代シーケンサー講習会「よく分かる次世代シーケンサー解析」を共催し、20人程度の若手研究者に対し3日間にわたってゲノム解析の技術支援を行った。計画研究者の大川が世話人の1人として開講したこの講習会では、次世代シーケンサー解析の講義と実機トレーニングを行った。また、1細胞解析、ゲノム解析や統計解析の観点から、先駆的な解析を行っている研究者を招聘することで、若手研究者にトップレベルの解析技術を一度の講習会で教育できるようにした。

### 若手研究者むけ解説書の出版

大学生から専門の研究者までを対象として、細胞核構造・クロマチン構造とそれに関与する因子、構造とそのダイナミクスを分かり易く解説した「染色体と細胞核のダイナミクス(化学同人)」を出版した。

### **ニュースレターによる海外若手ポスドクの研究成果紹介**

海外若手ポスドクが領域の研究者との共著論文を発表した際に、その論文の紹介や自身の研究を寄稿してもらっている(これまでに 2 名、現在1名予定中)。この取り組みは、国内の関連の研究者に向けたアピールになると考えている。

### **その他の活動**

中高生に対する特別授業 6 回、学童を対象とした顕微鏡講習会「ケンビロー先生がやってくる!!」の開催、「クロマチン動構造と創薬」セミナーの開催、各種研究会での講演などの啓蒙活動を行った。

## 8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

### 総括班による研究情報の共有・発信

領域内の多様な研究情報を共有し、さらに領域内外に発信するため、総括班の研究経費を以下のように活用した。

平成 25 年度: 領域ホームページの開設 (220 千円)、班会議の開催 (7 千円)、公開シンポジウム開催 (373 千円)、研究会・ワークショップ開催 (2 件、787 千円)

平成 26 年度: 班会議の開催 (717 千円)、公開シンポジウム開催 (346 千円)、研究会・ワークショップ開催 (2 件、750 千円)、学会共催 (3 件、450 千円)

平成 27 年度 (予定): 国際会議の開催 (3,000 千円)、班会議の開催 (654 千円)、研究会・ワークショップ開催 (2 件、600 千円)、学会共催 (1 件、222 千円)

さらに、若手研究者の育成のため、若手の会が主催する研究会を支援した (2 回、276 千円)。

ニュースレターは 12 号まで発行したが、紙媒体への印刷を行わず pdf での配信とホームページ上への掲載に限ったため、予算を節約できた。その分を公開シンポジウム開催に流用することで、大きな会場を確保することができた。

### 再構成クロマチン研究拠点の形成

平成 25 年度、早稲田大学に等温滴定型カロリメーター (GE ヘルスケア社・22,890 千円)、微量結晶化装置 (フォーミュラトリックス社・8,400 千円)、及び結晶観察装置 (フォーミュラトリックス社・15,645 千円) を設置し、胡桃坂が中心となり再構成クロマチン研究拠点として活用した。これらの機器は、多様なヒストンバリエーション等を含む再構成クロマチンの解析と結晶化に必須な装置として、高頻度で利用されている。本拠点にて調製されたヒストン及び再構成クロマチンは、自らの研究の推進に加えて本領域内外の研究チームに提供され (領域内 13 件を含め提供先 24 件、のべ 60 回以上)、多くの研究成果を生んでいる。

### イメージング・画像解析拠点の形成

平成 25 年度、大阪大学にスピニングディスク型共焦点顕微鏡システム (横河電機社、ニコン社・25,725 千円)、共焦点レーザスキャン顕微鏡 (ライカマクロシステムズ社・Leica TCS SP8・21,998 千円) を設置し、また情報通信研究所に EMCCD カメラ (Andor iXon Ultra897、4,599 千円) を設置し、木村、米田、原口が中心となりイメージング・画像解析拠点として活用した。これらの機器は、ライブイメージング観察や、木村が開発した FabLEM (Fab-based Live Endogenous Modification labeling) や FRAP (Fluorescence Recovery after Photobleaching)、FLIP (Fluorescence Loss in Photobleaching) を用いた核内タンパク質の動態の解析に用いられている。また、徳永が設置した超解像用光学顕微鏡及び多色蛍光用レーザー照明システム (オリンパス社等・12,055 千円) も 1 分子解析に活用されている。これらの顕微鏡装置は、胡桃坂、大川、原田をはじめ領域内の多くの研究者との共同研究にも使用されている。

### 計画研究の推進

上記の他、各計画研究の推進に必要な設備を設置した。代表的な設備は以下の通りである。設置や稼働の状況を領域内で共有することなどにより、領域内の計画研究及び公募研究に全ての設備の使用を解放した。また、研究支援者の雇用により、これらの装置の有効活用と研究推進を図った。

河野: シミュレーション計算用並列計算機 (コンカレント社・10,850 千円)、計算機の増強 (コンカレント社・4,500 千円)

小布施: 共焦点顕微鏡システム (ニコン社・20,181 千円)、顕微鏡用 CMOS カメラ (ニコン社・1,290 千円) (北海道大学は、上記の拠点とは地理的に遠隔地にあるため、木村のアドバイスを元に、研究目的に最適なシステムを構築した)

斉藤: リアルタイム PCR システム (ライフテクノロジー社・4,179 千円)、倒立型顕微鏡 (オリンパス社・4,882 千円)、化学発光・UV 撮影装置 (バイオラッド社・3,697 千円)

大川班: セルソーター (ソニー社・14,999 千円)

## 9. 総括班評価者による評価（2ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

### 外部評価委員

柴田武彦 理化学研究所（専門:生化学・遺伝学・細胞生物学）

森川耿右 国際高等研究所（専門:構造生物学）

木村暁 国立遺伝学研究所（専門:システム生物学・分子生物学）

笹井理生 名古屋大学（専門:生物物理学）

柴田氏、森川氏、木村氏には平成27年5月7から9日に開催された第3回班会議に参加いただき、その間に口頭または書面にて評価をいただいた。笹井氏には中間評価資料の草稿をお送りし、書面にてコメントをいただいた。以下、各氏のコメント。

### 柴田氏

共同研究が計画班の中でうまく行っているようである。その中に公募班を巻き込んで行く方が、今後の領域の発展に生きてくる。共同研究の成果が可能な限り期間内に論文化につながっていくように意識した方が良い。期間後に出たものについてもfollow upするようにした方が良いだろう。少なからぬ班員が網羅的解析を当たり前のようにやっており、研究のスピードが速くなっているのを感じる。今本さんの独自の視点で核内輸送タンパク質を網羅してしまうというアプローチのように、おもしろい結果が出てきているように感じた。一方で、シミュレーションの結果は、直感と異なる場合、その取り扱いに注意が必要であるが、新たな方向に研究を牽引するような結果を示せるようになれば良いだろう。

### 森川氏

全体として非常にうまく推進されており、感心しつつ発表を聞いていた。昨年に比べても研究の進捗はめざましいと感じた。実際、領域の立ち上がり時に想像していた以上にうまく運営されているとの印象を持った。他の領域と比較しても連携体制が極めて優れている。これは領域代表者と計画班代表者のオープンな個性が反映された結果と思われ、好感が持てた。一方で、細胞核のサイズや1分子解析、シミュレーションなど、研究者のテーマが多様化しつつある。ヒストンに関してだけでも、翻訳後修飾やバリエーションの種類が増加など急速に多様化しているのがこの分野の現状である。この事実は避けて通れない状況ではあるが、一方、領域終了時にどのように収束して行くのか、各人が常に念頭において研究を進める必要がある。その他のワークショップ、若手の会、一般公開シンポジウムなどのアウトリーチなども非常にうまく企画されていると感じた。

木村(暁)氏(口頭に加えて書面でもコメントをいただいた。以下、書面の抜粋。)

本領域は、新学術領域設置の意義である「新たな視点や手法による共同研究等の推進により、研究領域の新たな展開を目指す」点を重視しており、現時点で順調に達成されている。班員間のネットワークが密に形成され、共同研究が数多くの班員間で進んでいる。これにより、手法・材料が効率的にシェアされ、個々の研究グループでは難しいような幅広い手法・材料を用いた研究が早いスピードで進めることができている。上記の

ような研究体制からすでに目に見える成果もでており、Nature 誌、Nature Cell Biology 誌、Nature Communications 誌、PNAS 誌など厳しい審査で知られる国際誌に受理されている。抜群のチームワークで共同研究がすすんでいるのは、領域代表や計画研究代表を中心に領域内の他の研究に積極的に関与し貢献しようという気概が根底にあると思われ、研究手法・材料の面だけではなく、人格的にも理想的なメンバー構成となっている。本領域の中核をなす人的ネットワークは過去の特定領域研究や新学術領域研究によって培われたものが基盤となっており、よい伝統が本領域をつうじて将来にわたって拡大されていくことを願う。ホームページによる領域紹介をはじめ、ニュースレターを定期的に発行し、領域外の研究者にも領域活動が浸透している。さらには、一般向けの公開講演会も複数回開催し好評を得ている点も、領域外への貢献が認められる。また、領域を構成する研究室の若手研究者のコミュニティーを形成し、若手研究者が自主的にメーリングリストによる情報交換、ワークショップの開催をおこなっている。運営にあたっている若手研究者の成長は領域会議等での言動においても認められ、若手育成のしくみとして効果的である。ワークショップでは海外で活躍する日本人研究者を招聘しているのもよい企画と考える。

### 笹井氏

最近の生命科学研究では、異なる複数の手法を総合して問題に迫るアプローチがとくに必要とされていると思われるが、本領域はこの要請に的確にこたえ、効果的な共同研究を創出して成果を挙げている。アイデアの交換のみならず、技術やサンプルの共有を実質的に進めて、構造生物学、細胞生物学、ゲノミクス、超解像イメージング、計算科学など、異なる分野間の協力を進めていることは大変印象的である。また、蛋白質科学会、生物物理学会などでのオープンな議論も成功しており、領域外への成果の波及も期待される。とりわけ、この領域の活動に刺激されて、クロマチン動的構造についての計算科学的な研究が育つ機運があることは興味深い。核膜、核膜孔複合体、核小体、非コードRNAとクロマチンの相互作用、クロマチン構造と転写の関係など、領域の活動を通じて研究の対象が広がっているが、さらに領域終了後のクロマチン研究についての新しい展望や希望を明示することができるように、今後の活動が展開してゆけばおもしろい。

## 10. 今後の研究領域の推進方策（2ページ程度）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募研究での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

### 研究領域の推進方策

本領域発足以来、これまでに計画研究から120報、公募研究から42報の合計162報の論文発表がなされており、全体として順調に領域研究が進行していると自己評価している。本領域では、研究の対象の項目において、「多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの」に合致している。実際に、それぞれの研究者が持つ独自の技術を合わせることによって、前出の162報のうちの33報が共同研究論文として、*Nature*、*Nature Communications*、*Scientific Reports*、*Developmental Cell*、*Stem Cell Reports*、*Nucleic Acids Research*、*PNAS*などに発表されており、当初の計画は順調に進行していると考えられる。今後は、このような領域内の共同研究ネットワークをさらに強化するために、個々の研究者が持つ独自技術、研究材料、研究情報などを有効に活用できるよう、領域内での技術支援や情報データベースの充実化などを行うことで、領域として十分にサポートしていきたい。

個々の領域メンバーの研究と研究領域全体の推進のために、総括班を中心として以下の研究活動を、設定期間の後半に向けて行っていく。

#### (1) 領域内での研究技術支援

これまでに、領域内技術支援として、精製ヒストン及び再構成ヌクレオソームの供給（胡桃坂）、ヒストン修飾抗体の供給（木村）、ヒストンバリエーション抗体の供給（大川）、Fluorescence Recovery after Photobleaching (FRAP)法による核内タンパク質動態解析（木村）、ノックアウトマウスの作製（山縣）、ChIP-seq法によるゲノム局在解析（大川）、プロテオミクス解析（小布施）、ライブセルイメージング（原口）、1分子イメージング（徳永）などを行って来た。これらの技術支援が、領域内共同研究の推進力となった。今後も、領域メンバーからの要望に柔軟に対応しつつ技術支援を行うことで、領域研究のさらなる加速を促していく。今後はさらに、分子シミュレーション（河野）、ハイコンテンツ画像解析（斉藤）といった技術も支援項目として行っていく。

#### (2) トレーニングコース・ワークショップの開催

本領域発足以来、原口・平岡は、蛍光イメージングの実機講習会として、すでに2回の細胞生物学ワークショップ（6日間/1回）を主催し、本年度7月に3回目を主催として開催する予定である。このワークショップは、全国の大学院生及び若手研究者を対象として実践的な蛍光イメージング法の修得を目指すもので、蛍光イメージングによる解析をしたい研究者から好評を得ている。本領域からは、木村や山縣も講師として参加して貢献している。また、大川は、次世代シーケンサー講習会「よく分かる次世代シーケンサー解析」を主催し、20人程度の若手研究者に対し3日間にわたってゲノミクス解析の技術支援を行った。そして、胡桃坂が主催して、リコンビナントヒストンの精製とヌクレオソーム再構成技術の講習会を不定期に開催しており、領域内外の研究者への技術支援を行っている。これらのワークショップは、今後も引き続き、領域メンバーらの要望に応える形で継続していく予定である。

#### (3) 若手研究者の育成

当該領域では、「クロマチン動構造若手研究者の会」を発足し、現在60名の若手研究者が参加している。これまでに2回の若手研究者ワークショップを、若手研究者が中心になって開催した。1回目は、現在国外の研究機関にて研究を行っている日本人ポスドク及びPIを招聘し、彼らが展開している第一線の研究を紹介した。2回目では、参画する若手研究者の研究発表会を開催し、互いの研究内容について議論し交流を深める場を提供した。並行して、若手教育の一環として、山縣を講師として研究倫理についての討論会を、木村を講師として英語論文の作成講習会を開催し、好評を得た。そして本年度（H27年）7月29日には、海外での研究経験を持つ国内の研究者を招聘して、3回目「若手の会」を開催する予定である。これらの活動によって、本領域の若手研究者が国内のみならず、海外での活躍をも視野に入れて成長していくことをサポートする。これらの活動を継続することにより、今後も若手の会での活動を中心に若手の育成と支援を行っていく。

#### (4) 広報活動

引き続き、領域HP (<http://nucleosome.kyushu-u.ac.jp/index.html>)やニュースレターの発行を通じて、本領域での研究成果や活動を広報していく。ニュースレターは、すでに12号まで発行しており、HP上での公開と配信と行う(配信数は250名に上る)。また、領域全体のアウトリーチ活動として、これまでに2回の一般公開シンポジウムを行った。いずれも100名前後の一般参加者を迎えて大規模に行い好評を得た。このような一般向けの公開シンポジウムを引き続き行っていく予定である。このような活動を通して、最新の成果を、国民に分かり易く伝えていきたい。

#### 公募研究による重点的な補充

本領域には、生化学・構造生物学的解析、シミュレーション解析、生細胞・1分子イメージング解析、ゲノム・プロテオミクス解析、画像解析、遺伝学的解析などの研究手法に習熟した研究者が参加している。これらの研究技術の高度化と領域内研究の発展のために、本領域で不足している化学的手法(例えば、化学合成による修飾タンパク質作製法や構造変化を可視化するためのプローブ作製法などを想定)に習熟した研究者を公募研究にて重点的に補充したい。現在、X線結晶構造解析及びX線・中性子散乱解析の技術を持つ研究は参画しているものの、多数発見されつつあるヒストンバリエーションや特定のヒストン修飾に特異的なクロマチン動構造を理解するには、その数は十分ではない。これらの解析法に長けた研究者を補填したい。クライオ電子顕微鏡による単粒子解析や質量分析解析は、クロマチン研究の新たな研究手法として国際的に注目されているが、本領域では胡桃坂が海外との共同研究にて行っているのみである。また、クロマチン構造と疾病との関係を理解する研究や、その治療を目指した薬剤開発研究をテーマとした、意欲的な研究者を重点的に補充する。これらの公募研究の補充によって、分子から高次生命現象までをシームレスに繋ぐ研究を加速させたい。

#### 国内外の研究者との連携による組織の強化

前出の「細胞生物学ワークショップ」や「リコンビナントヒストン精製とヌクレオソーム再構成技術の講習会」は、領域内のみならず、領域外研究者に対しても広く行っている。このような方法にて、当該領域で生み出された新たな研究手法や材料を領域外研究者とも共有することで、「当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらす」ことを目指していく。また、他の新学術領域と合同シンポジウムを開催することで、領域内で得られた最新の知見・技術を議論し、他の新学術領域とも連携を深めたい。海外の研究者との連携を計る目的で、14名の第一線の研究者を海外から招聘し、本年度(H27年)8月に国際学会「International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics, and Function」を開催する(国際会議HP: <http://www.knt-ec.net/2015/iscsdf/>)。本会議を開催することで、最新の研究知見の交流と共同研究の開始を支援する。さらに密接な議論と共同研究の相談を行う目的で、国際会議「Chromatin and Epigenetics」を同月に早稲田大学にて開催の予定である。これらの活動を通して、国内及び国外の研究者と緊密な連携体制を構築することで、当該領域の組織の強化を計る。