

領域略称名：クロマチン動構造  
領域番号：3506

平成30年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「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30年5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

1. 研究領域の目的及び概要	6
2. 研究領域の設定目的の達成度	8
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	11
4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況	12
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	14
6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	17
7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況	22
8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	24
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	28
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	29
11. 総括班評価者による評価	30

**研究組織** (総：総括班, 支：国際活動支援班, 計：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究, 公：公募研究)

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 総	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
Y00 支	15K21730 クロマチン動構造の国際共同研究ネットワーク形成	平成27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	量子科学技術研究開発機構・関西光科学研究所・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	大阪大学・理学研究科・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・科学技術創成研究院・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	公益財団法人がん研究会・がん研究所・部長	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・生体防御医学研究所・教授	1
総括・支援・計画研究 計 11 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・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	4
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ティング	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・自然科学研究科・教授	3
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・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	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

	ームの役割				
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	2
A01 公	16H01323 ヒストンを基盤とした染色体構築メカニズムの解明	平成28年度～平成29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	16H01321 時空間的核アクチン重合化制御によるクロマチン構造と転写状態の変動	平成28年度～平成29年度	宮本 圭	近畿大学・生物理工学部・講師	2
A01 公	16H01320 ヘテロクロマチン形成とクロマチン環境	平成28年度～平成29年度	佐渡 敬	近畿大学・農学部・教授	1
A01 公	16H01319 雄性不妊及び発がん過程のクロマチン動態解析	平成28年度～平成29年度	上田 潤	旭川医科大学・医学部・准教授	2
A01 公	16H01318 ヒストンバリエーションに基づくクロマチンの機能の推定	平成28年度～平成29年度	浜田 道昭	早稲田大学・理工学術院・准教授	1
A01 公	16H01317 分裂酵母 CENP-A スクレオソームと動原体の再構築	平成28年度～平成29年度	佐藤 政充	早稲田大学・理工学術院・准教授	1
A01 公	16H01316 スクレオソームの多様な構造を解析する技術の開発	平成28年度～平成29年度	香川 亘	明星大学・理工学部・准教授	1
A01 公	16H01315 HP1 による動的クロマチン構造変換の制御	平成28年度～平成29年度	中山 潤一	基礎生物学研究所・クロマチン制御研究部門・教授	1
A01 公	16H01314 非コードRNAによるクロマチン・高次ゲノム構造制御機構の解明	平成28年度～平成29年度	廣田 耕志	首都大学東京・理工学研究科・教授	1
A01 公	16H01312 ゲノム修復における動的クロマチン構造変換	平成28年度～平成29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	16H01311 クロマチン動構造を介したDNA 損傷修復制御の分子基盤	平成28年度～平成29年度	菅澤 薫	神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・教授	3
A01 公	16H01310 サブテロメアクロマチン構造の動的制御メカニズム	平成28年度～平成29年度	加納 純子	大阪大学・蛋白質研究所・准教授	1
A01 公	16H01309 染色体上の非コード RNA が動的クロマチン構造を制御する仕組み	平成28年度～平成29年度	平岡 泰	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A01 公	16H01307 ヒストン H2AX の交換反応を介した損傷クロマチンダイナミクス	平成28年度～平成29年度	井倉 毅	京都大学・放射線生物研究センター・准教授	1

A01 公	16H01306 量子ビーム散乱法の協奏 的利用による機能性スク レオソームの溶液構造解 析	平成 28 年度～ 平成 29 年度	杉山 正明	京都大学・原子炉実験所・教授	1
A01 公	16H01304 セントロメアにおけるクロマ チン構造制御の分子基盤	平成 28 年度～ 平成 29 年度	有吉 真理子	大阪大学・生命機能研究科・特任助教	1
A01 公	16H01303 スクレオソーム動構造とそ のエピジェネティック制御 の分子シミュレーション研 究	平成 28 年度～ 平成 29 年度	高田 彰二	京都大学・理学研究科・教授	1
A01 公	16H01300 人工触媒システムを用い たヒストンアシル化の機能 解析	平成 28 年度～ 平成 29 年度	川島 茂裕	東京大学・大学院薬学系研究科(薬学 部)・特任講師	1
A01 公	16H01298 DNA 修復とクロマチン制 御の統合的理解によるがん 治療への応用	平成 28 年度～ 平成 29 年度	細谷 紀子	東京大学・大学院医学系研究科(医学 部)・講師	1
A01 公	16H01297 クロマチン構造変化の可 視化によるニューロン分化 遺伝子群制御機構の解 明	平成 28 年度～ 平成 29 年度	岸 雄介	東京大学・大学院薬学系研究科(薬学 部)・助教	1
A01 公	16H01296 新規分子 CAMP を含む ヘテロクロマチン結合複 合体によるゲノム安定性 維持機構	平成 28 年度～ 平成 29 年度	田中 耕三	東北大学・加齢医学研究所・教授	3
A01 公	16H01295 選択的遺伝子領域の動 的ヘテロクロマチン化誘 導機構	平成 28 年度～ 平成 29 年度	落合 恭子	東北大学・医学系研究科・助教	1
公募研究 計 41 件					

## 1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ以内）

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 2 重鎖 DNA が巻き付いた構造で、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も非常に安定であり、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いた。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*, 1997) 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*, 2005) 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(これは H27 年当時の数字、H30 年現在は 98 種類となっている)。代表例として、2010 年にはヒト精巢特異的なヒストン H3T を含むヌクレオソーム (Tachiwana, Kurumizaka et al, *PNAS*, 2010)、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*, 2011)。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”の実体は不明であった。

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などによって生み出されるクロマチンの多様性こそが、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。

本研究は、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ものである。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、ブラックボックスとなっているクロマチン構造を解明し、さらに、それを動的に制御する因子や機構を明らかにすることを具体的な目標とする。本領域は、この“動的”クロマチン構造の実体を明らかにすることで、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、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ものである。

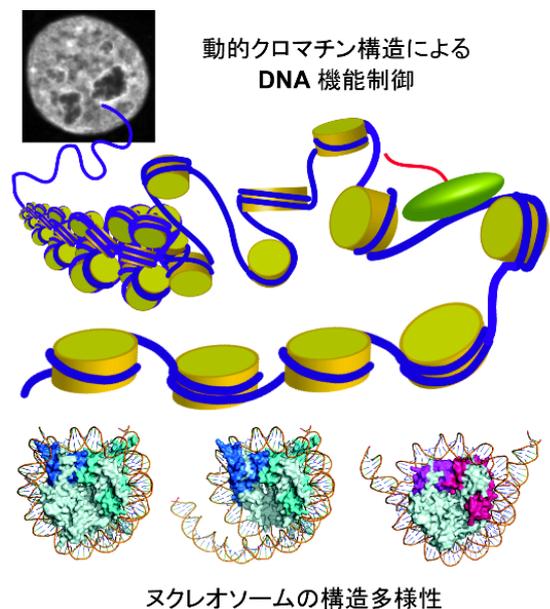


図 1 : 細胞核における動的クロマチン構造

## 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「(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」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、「(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」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 EMBO Workshop や EMBO Conference、Cold Spring Harbor Symposium、Keystone Symposium などで取りあげられている。領域代表者の胡桃坂は、それらの会議のオーガナイザーを務めるなど、指導的な役割を果たしてきた。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。こうした流れを受けて、本領域の研究者を中心に、我が国においても“ヒストンバリエント研究会”を発足しており、本領域は、この研究会の継続的な開催を支援し、第2回目の研究会を東京工業大学(2015年)にて開催した(この活動を継続し、2018年2月には、第5回ヒストンバリエント研究会を開催している)。

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 2 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開拓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きた。そして近年では、ヒストンバリエントの重要性も注目され、研究が活発化してきていた。しかし、これらのヒストンバリエントやヒストン修飾だけではクロマチン機能を説明できず、クロマチン結合因子や核内構造体との相互作用など、細胞核全体を包括的に研究する必要性が出て来ていた。このような流れは世界の潮流でもあり、米国国立衛生研究所(NIH)では2015年に、細胞核の構造・ダイナミクスを包括的に理解することを目指す「4Dヌクレオームプログラム(4D Nucleome Program)」が予算化された。また、EUにおいても4D Nucleome Initiative in Europeが組織され、予算化に向けた動きが始まっている。本領域はこれらの発足に先立って、クロマチンの構造・ダイナミクスや核内構造体に着目し、「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を行おうとするものである(図2)。また、世界と共同研究ネットワークを形成することで我が国の研究をさらに発展させると共に、若手研究者の発掘と育成を行うことを目的とするものである。

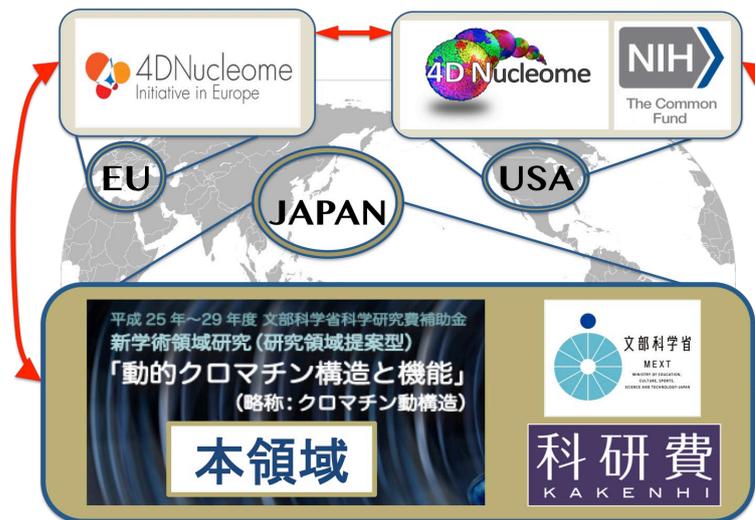


図2：国際ネットワークの構築

## 2. 研究領域の設定目的の達成度（3 ページ以内）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、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の達成度合いについて、具体的に記述してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

**目的:** 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。

### 応募時に研究領域として設定した対象に照らしての達成度合い

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) 多様な視点や手法をもつ研究者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：先進的かつ多様な手法を持つ研究者が有機的なネットワークを形成し、積極的に共同研究を行うことにより、当該研究分野にブレークスルーをもたらす成果を上げた。現在までに、計のべ 673(重複無 520)報、内訳、計画研究からのべ 410(重複無 322)報、公募研究からのべ 263(重複無 198)報の論文として発表し、うち 267(重複無 114)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共同研究が、本領域研究を推進してきたことを示している。

(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：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(H25-29年度の試料分与件数:計 200件以上;関連論文 100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、国内外の広汎な研究領域で利用されており、他の研究領域の発展にも寄与するものである(共同研究論文のべ 58報(重複無 34報、領域内共同研究論文 20報を含む)。これらの成果は、新聞、雑誌、テレビ、web siteなど、多くのメディアに取り上げられており(計画研究 157件、公募研究 32件)、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。

### 研究領域の目標と成果

全体が一体として研究を行うため、研究項目は1つ(A01)とした。具体的な達成目標は、以下の6項目とした。項目毎の成果と主な担当者を、以下に記載した。計画研究代表者をマーク付二重下線、計画研究分担者を同一重下線、公募研究代表者をマーク無し二重下線とした。

#### (1) 多様なヌクレオソームの構造と動態の解明

胡桃坂は、様々な翻訳後修飾を含むヒストンを高純度で作製する方法を確立し、多様なヒストン修飾やDNA損傷、DNAメチル化をもったヌクレオソームを高効率に作製する方法を構築した。またポリヌクレオソーム(ヌクレオソームが2つあるいは3つ連なったもの)を作製する方法を確立した。これらの方法を駆使して作製した多様な(様々なヒストンバリエーション、ヒストン修飾、DNA損傷、DNAメチル化などを含む)ヌクレオソーム構造を、X線結晶構造解析、クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析によって、新たに28種類決定した(菅澤、大川、木村、香川、上田、山縣、川島らとの共同研究、論文25報)。これまでに決定したヌクレオソーム構造は98種類に達し、まさに当該分野では世界のトップリーダーとなった。特に、セントロメア構造と機能との関係を解析した。セントロメアの重要な基盤構造である、セントロメア特異的ヒストンH3であるCENP-Aを2分子含んだCENP-A/CENP-Aヌクレオソームに関して、その特徴的な立体構造と構造的性質を、X線結晶構造解析とクライオ電子顕微鏡解析によって世界に先駆けて明らかにした。一方、CENP-A/H3.3ハイブリッドヌクレオソームが、悪性度の高いがん細胞の染色体腕部に存在することを見出し(Lacoste et al, *Mol Cell*, 2014)、その構造解析にも成功した(Arimura et al, *Sci Rep*, 2014)(堀、香川との共同研究)。さらに、CENP-BとCENP-Aヌクレオソームの結合を明らかにした(Fujita et al, *Nucleic Acids Res*, 2015)。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活性をもつことを発見した(Takeuchi et al, *Nucleic Acids Res*, 2014)。また、堀は木村と共同し、セントロメア特異的にヒストンH4K20モノメチル化修飾が集積し、このメチル化が機能的セントロメア形成の分子スイッチとして機能することを提唱した(Hori et al, *Dev Cell*, 2014,掲載誌表紙を飾る成果)。加えて堀はCENP-Aの取り込みに関与するライセンス因子KNL2の機能ドメインを明らかにし(Hori et al, *Dev Cell*, 2017)、正常な動原体構築がセントロメアの位置・大きさの安定維持に重要であることを示した(Hori et al, *J Cell Biol*, 2017,掲載誌"special collection"に選定)。さらに胡桃坂は、CENP-Aヌクレオソームを含んだポリヌクレオソーム構造をクライオ電子顕微鏡を用いて明らかにし、堀と共同で、セントロメアのゆるんだ構造と可塑性こそがセントロメア機能に重要であることを解き明かしつつある。これらのセントロメアを対象とした解析に加え、胡桃坂は、大川、河野、杉山と共同で、その存在が謎とされていたオーバーラッピングジヌクレオソームの構造を決定し、転写開始点近傍に形成されていることを明らかにした(Kato et al, *Science*, 2017,報道発表)。また、クライオ電子顕微鏡を用い、エンハンサー領域の

DNA 配列を含むヌクレオソームの構造を 4.0 Å の分解能で明らかにした (Takizawa et al, *Open Biol*, 2018)。また、中山と共同し、ヘテロクロマチンタンパク質 HP1 が結合した、H3K9-トリメチル化を含むジヌクレオソームの構造を明らかにした (Machida et al, *Mol Cell*, 2018, 報道発表)。さらに、小田や杉山と共同で、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を X 線小角散乱法や中性子散乱法を用いて明らかにした (Arimura et al, *Sci Rep*, 2013; Sugiyama et al, *Biophys J*, 2014)。

## (2) シミュレーションによるクロマチン構造ダイナミクスの可視化

河野は、独自に開発した計算科学的なアプローチにより (Ikebe et al, *J Comput Chem*, 2014)、種々のヒストンバリエントや化学修飾をもったヌクレオソームやポリヌクレオソームについて、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、セントロメア CENP-A ヌクレオソームでの DNA 不安定性が、2 つのアミノ酸残基の違いで生じることを明らかにした (Kono et al, *PLoS One*, 2015)。また、基準振動解析計算を使って、クライオ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結果、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ことが明らかになった (論文準備中)。ヒストン H3 の N 末端領域のアセチル化とメチル化の影響を、スーパーコンピュータを用いて解析し、アセチル化はコンパクトな構造形成に寄与すること、メチル化はアセチル化ほどの寄与がないことを明らかにした (Ikebe et al, *PLoS Comput Biol*, 2016; Kono et al, *PLoS Comput Biol*, 2018)。また、アセチル化とメチル化はともに、ヌクレオソームに巻き付いた DNA をヒストンコアから少し解離させる効果を持つことを発見した (Li and Kono, *Sci Rep*, 2016)。

## (3) ヒストンバリエント・修飾の高次生命機能における役割の解析

木村は、徳永、大川と共同し、独自開発した FabLEM 法を用いた翻訳後修飾の生細胞動態解析、1 分子イメージング、ChIP-seq 解析などを組み合わせて、転写活性化におけるヒストン H3K27 アセチル化の役割を明らかにした (Stasevich et al, *Nature*, 2014, 報道発表)。また、山縣、胡桃坂、小布施と共同して、生細胞・胚・個体においてヒストン修飾の動態を解析できるプローブ Mintbody を開発した (Sato et al, *Sci Rep*, 2013; Kimura et al, *Histochem Cell Biol*, 2015, 報道発表)。さらに、山縣、上田、浅川、原口、平岡、胡桃坂と共同し、マウスやゼブラフィッシュの発生過程や減数分裂過程などの高次生命現象を生きたまま可視化することに成功した (Sato et al, *J Mol Biol*, 2016, 掲載誌の表紙を飾る成果; Sato et al, *BioProtoc*, 2017)。この手法は、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、今後、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。さらに、山縣は、木村と共同して、メチル化 DNA を認識する蛍光タンパク質を発現するノックインマウス (MethylRO) を作製し、発生過程でのメチル化 DNA を全身にわたり長時間イメージングすることに成功した (Ueda et al, *Stem Cell Rep*, 2014)。それを用いて、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、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。山縣は、独自の長時間イメージング技術を用いて、不活性 X 染色体の再活性化過程を明らかにした (Kobayashi et al, *Development*, 2016)。さらに、ゲノム編集技術を使って、マウス胚のセントロメア周辺の DNA メチル化レベルを改変できる方法を開発した (Yamazaki et al, *PLoS One*, 2017)。大川は、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析法 (ゲノミクス) を駆使し、木村と共同で、ヒストン H3 のバリエントを、2015 年にマウスで 14 種、ヒトで 3 種新たに発見した (Maehara et al, *Epigen Chrom*, 2015; Taguchi et al, *Biochemistry*, 2017)。さらに、山縣、上田、木村、胡桃坂と共同で、これら新規ヒストンバリエントの骨格筋分化・再生、精子形成における役割を明らかにした (Ueda et al, *Cell Rep*, 2017, 報道発表; Harada et al, *Nat Commun*, 2018, 報道発表)。また、分化に必要な遺伝子発現制御に重要であることを明らかにした (Harada et al, *Nucleic Acids Res*, 2015a, 2015b)。徳永は、新しい 1 分子構造解析イメージング法として、移動部分軌跡解析法 (moving subtrajectory analysis) を開発した (Ito et al, *Sci Rep*, 2017)。これは、従来法では求めることができなかった反応速度定数の定量を実現し、単色の 1 分子イメージング画像からでも可能にする技術である。さらに、多色位置ずれ補正の高精度化や多色超解像ナノ解析方法の高速化を行い、4 色対応 2 色同時観察可能な 1 分子イメージングシステムを構築した。

## (4) 核内構造体によるクロマチン機能制御機構の解明

原口と浅川は、徳永、平岡と共同し、分裂酵母の核膜孔複合体を構成する全タンパク質を解明した (Asakawa et al, *Nucleus*, 2014, 掲載誌の表紙を飾る成果)。さらに、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 et al, *J Cell Biol*, 2015; Yang et al, *Cell Cycle*, 2015; Asakawa et al, *Front Cell Dev Biol*, 2016)。また、平岡、小布施と共同し、核膜タンパク質 LEM2 がセントロメアのヘテロクロマチン形成を増強することも明らかにした (Tange et al, *Genes Cells*, 2016; Hirano et al, *Genes Cells*, 2017)。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(LiveCLEM 法)を使って、DNA が細胞内に入った直後の細胞応答を可視化することに成功、DNA ビーズ周辺に“核様膜の膜構造”が形成されることを明らかにした(Kobayashi et al, *PNAS*, 2015,報道発表) (将来の「人工核」作製に道を拓く成果)。さらに、転写因子 p62 タンパク質を除去することで核膜形成を増進させると、DNA トランスフェクション効率が向上することを発見した(Tsuchiya et al, *FEBS Lett*, 2017,報道発表;Tsuchiya et al, *FEBS Open Bio*, 2018)。米田と岡は、小布施と共同して、核移行因子 importin- $\alpha$  が、サイレンシング因子 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こと(Moriyama et al, *Biochem Biophys Res Commun*, 2015)、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、細胞老化を調節することを明らかにした(Tsujii et al, *J Biol Chem*, 2015)。米田と安原は、大川、胡桃坂、木村、齊藤と共同し、細胞分化やがん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(Yamada et al, *Sci Rep*, 2016; Yasuhara & Yoneda, *Neurochem Int*, 2017)。齊藤は、機械学習を用いた独自の画像解析技術を確認し応用した(Tokunaga et al, *Sci Rep*, 2014; Ono et al, *Mol Biol Cell*, 2017; Takagi et al, *J Cell Sci*, 2018)。また、原田と共同し、核内アクチンファミリータンパク質による核小体の形成機構を発見した(Kitamura et al, *Biochem Biophys Res Commun*, 2015)。原田は、徳永、胡桃坂、木村、田代と共同し、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、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(Osakabe et al, *PLoS One*, 2014; Nishibuchi et al, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014; Yamazaki et al, *Biosci Biotechnol Biochem*, 2015)。

#### (5) ヘテロクロマチンなどのクロマチンドメイン形成機構の解析

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の解析を行い、PRC2は少なくとも7種類、G9a複合体は少なくとも3種類の複合体として存在することを明らかにした(論文準備中)。また、木村と共同し、新規HP1結合タンパク質SCAIの解析をとおしてDNA二重鎖切断時の損傷応答における修復経路選択のメカニズムを明らかにした(Isobe et al, *Cell Rep*, 2017)。また、佐渡と共同し、遺伝子量補償(dosage compensation)と発現量調節との関係を明らかにした(Sakata et al, *Development*, 2017)。佐渡は、条件的ヘテロクロマチンの構築に必要なSmcHD1の機能を検討し、従来考えられてきた不活性X染色体の維持ではなく、クロマチン環境保持に重要であることを提唱した(論文投稿中)。中山は、胡桃坂と共同し、ポリコーン抑制複合体の因子であるCBX2のリン酸化は、ヌクレオソームとの結合に重要であることを発見した(Kawaguchi et al, *J Biochem*, 2017)。田中は、HP1結合タンパク質CAMPとRev7の複合体構造を明らかにした(Hara et al, *J Biol Chem*, 2017)。また、原口と共同で、分裂期の動原体の側面に微小管が結合することが、その後の正常の分離に必要であることを発見した(Itoh et al, *Sci Rep*, 2018)。

#### (6) クロマチンの動構造と疾病との関係を明らかにする

齊藤は、大川と共同し、乳がんの再発過程で、核内RNAクラウドと呼ばれる構造体を形成する非コードRNA(エレノアと命名)を同定し、エレノア構造が、乳がん再発と密接に関連することを明らかにした(Tomita et al, *Nat Commun*, 2015, 報道発表; Tomita et al, *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2017)。この発見は、今後、再発乳がんの治療に役立つものと期待されている。米田と岡は、大川、木村と共同し、白血病因子 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(Oka et al, *eLife*, 2016,報道発表)。今後、白血病の診断や創薬にもつながると考えられる。山縣と上田は、大川が発見したH3mmTバリエントのノックアウトマウスを作製し、胡桃坂と共同で、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(Ueda et al, *Cell Rep*, 2017,報道発表)。このバリエントは精巣に高発現しており、その変異は、無精子症の原因となるものと注目されている。

#### 異分野融合によって得られた階層を越えるクロマチン動構造の新概念

領域代表の胡桃坂は、領域開始前に、セントロメア特異的CENP-Aヌクレオソームの構造を解析し、ヒストンに巻きついたDNAの両端が通常のヌクレオソームより開いた形をしていることを突き止めた(Tachiwana et al, *Nature*, 2011)。この発見は、従来のセントロメア凝縮説とは相反するものであり、その構造の意義の解明が待たれていた。本領域では、X線結晶解析や中性子線散乱解析によるセントロメアヌクレオソームの原子・分子レベルでの構造解析を中心に、シミュレーションによる解析、クライオ電子顕微鏡による構造解析、生細胞蛍光イメージング法を使った動態解析、遺伝子変異・破壊による機能解析など、異分野の先端的解析技術を駆使して検討を行った。その結果、代表的なヘテロクロマチンとして知られているセントロメアは従来考えられていたほど凝縮していないこと、セントロメアヌクレオソームの“開いた”動的構造こそがセントロメア機能に必須であるという結果を得た。これは、クロマチン構造に新概念をもたらす成果である。

### 3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ以内）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

専門性の高い独自技術あるいは異なる分野で傑出した業績をもつ研究者が、有機的な連携を図りながら研究を進めた。その結果、多くの優れた共同研究の成果が生まれた（のべ 267 報；重複なし 114 報）。また、総括班や国際活動支援班が、班員の国内・国際的な活動を支援することで、研究を効率良く進めることができた。従って、研究を推進する上での問題は全く無かったと言っても過言ではない。領域の運営に当たっては、以下の点に留意して進めた。

#### 【真の異分野融合研究による、原子・分子から細胞・組織・個体まで、階層を越えた研究の推進へ】

毎年の班会議に加え、様々な機会を捉えて、班員が議論できる機会を多く設けた。そのひとつは、毎年開催される学会（分子生物学会、生化学会、生物物理学会など）であり、その機会を利用し、ワークショップやシンポジウムを共催・後援することで班員同士が議論する場を設けた。また、班員が中心となって、第 2-5 回のヒストンバリエーション研究会や第 31-35 回染色体ワークショップ・第 12-16 回核ダイナミクス研究会を開催・後援した。これらのミーティングを利用し、班員やその研究室の若手研究員が、具体的な研究方法や問題点に踏み込んで議論する機会を設け、異分野の研究者が何度も顔を合わせて議論することで、真の融合研究を生むことができたと考えている。また、アウトリーチ活動の一環として、（高校生を主なターゲットとした）一般公開シンポジウムを 4 回開催した。そこでは、非常に噛み砕いた話を聞くことができるため、異分野の研究者にとっても理解を深める良い機会となったと考えている。本領域では、研究者同士の仲が良好で（決してなれ合いではなく、班会議ではフランクに問題点を指摘できる関係性を築いていた）、そのことが領域運営にとって極めて有効であり、全体的に協力的な環境を作り出すのに重要な役割を果たしたと考える。

#### 【クロマチン動構造解析のための新技術開発の推進】

胡桃坂は、多様な修飾ヒストンやバリエーションから構成されるヌクレオソームを、試験管内で高純度に精製する方法を確立した。例えば、セントロメア特異的な CENP-A ヌクレオソームは、悪性度の高いがん細胞において、ヒストンバリエーション H3.3 と CENP-A が 1 分子ずつ入ったヘミ構造として染色体腕部に取り込まれると考えられるが、目的に合った特殊なヌクレオソームの作製が可能になったことで、このような特殊なヌクレオソーム構造を高い精度で解析することが可能となった。さらに、そのようなモノヌクレオソームが 2 個か 3 個つながってできるポリヌクレオソームを、高純度で試験管再構成する技術を開発し、並行してこれらのポリヌクレオソームをクライオ電子顕微鏡を用いて観察する技術を開発した。この再構成ポリヌクレオソームの 3 次元構造を、クライオ電子顕微鏡を使って可視化したのは世界初の成果であり、今後、ヌクレオソーム再構成技術とクライオ電子顕微鏡法を組み合わせることで、より複雑なクロマチン構造を詳細に理解することが可能となった。木村は、特定のヒストン化学修飾を生きた細胞で可視化できるプローブ（Mintbody）の開発に成功した。Mintbody をノックインした細胞あるいは個体を作製することで、発生や分化、あるいはがん化のプロセスでのヒストン修飾状態の変化を生きたままの生物で観察することが可能となった。木村と大川は共同して、生体中のごく少数あるいは 1 細胞のエピゲノム状態を解析できる技術（ChILT 法）の開発に成功した。原口は、DNA を結合した人工ビーズを細胞内に導入することで、人工核を細胞内に構築することに成功した。徳永は、1 分子蛍光イメージング法を改良し、反応速度定数の定量が可能なシステムおよび 4 色対応 2 色同時観察可能な 1 分子イメージングシステムを構築した。

#### 【若手の育成】

班員の研究室の若手を中心に「若手の会」を組織し、班会議あるいは学会の前夜で、若手の研究会を開催した。時には、海外で活躍する若手研究者の講演会を設け、国内の若手研究者に刺激を与えた。同時に、海外で活躍する若手研究者に自身をアピールする機会を提供した（図 3）。「若手の会」主催で研究会 5 件を開催し、うち 1 件は 2017 年度に新学術領域「ステムセル」「エピゲノム」と合同で開催し、異分野間の若手研究者の交流を促した。若手研究者を対象として、蛍光顕微鏡実機講習会（細胞生物学ワークショップ）を、1 週間/年 x 5



図 3 : 「若手の会」研究会の様子

年間、開催した。これらの活動を通して、研究の視野を広げるきっかけを与えた。5 年間で計 34 件の学術振興会特別研究員が採択された。また、採択時に任期付准教授であった大川は定年制教授に、採択時に特任准教授であった山縣は定年制准教授へとキャリアアップを成し遂げた。このように若手研究者の育成に大きく貢献した。

#### 4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況（2ページ以内）

審査結果の所見及び中間評価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。

<審査結果の所見において指摘を受けた事項への(中間評価時の)対応状況>

(審査部会所見、原文まま)

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。

コメント(1): 計画している内容が非常に膨大であるため、研究目的達成に向けた一層の意思統一が必要と思われる。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。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。また、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(これはH27年の中間評価時の論文数、H30年の事後評価では114報になっている)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): 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」「ゲノミクス拠点」「プロテオミクス拠点」を設け、領域内の実験材料や技術の共有、情報交換を推進した。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た。例えば、大川の発見したヒストンバリエーションを、木村、徳永、斉藤らが細胞核内動態解析を行い、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、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役割、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、岡、原口、浅川、平岡、胡桃坂、小布施、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 et al, *Biochem Biophys Res Commun*, 2015; Yang et al, *J Cell Biol*, 2015; Tange et al, *Genes Cells*, 2016)、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(Asakawa et al, *Nucleus*, 2014; Tsujii et al, *J Biol Chem*, 2015; Kobayashi et al, *PNAS*, 2015)。

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。

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。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、白血病(核膜孔タンパク質)、がん(ヒストンバリエーション、Importin- $\alpha$ )、不妊(ヒストンバリエーション)、難治性乳がん(核内非コードRNA; Tomita et al, *Nature Commun*, 2015)の治療への可能性を提唱した(この評価を受けて関連研究を推進し、最終評価時は、白血病(Oka et al, *eLife*, 2016)、不妊(Ueda et al, *Cell Rep*, 2017)、がん(Yamada et al, *Sci Rep*, 2016)などの疾患治療に役立つ論文を発表している)。

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。

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、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、分裂期染色体動態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。

アウトリーチ活動については、細胞生物学ワークショップ(蛍光顕微鏡実機講習会、1週間x5回)、次世代シーケンサー講習会(1回)、高校生を主なターゲットとした一般公開シンポジウム(3回)、中高生に対する特別授業・実験・実習(64回)、子供向け顕微鏡講習会など、計154回の講演、一般セミナーを開催した。高校の理科教材開発の専門家(高崎健康福祉大学 片山氏)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。

#### <中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況>

(中間評価における指摘、原文まま)

##### 中間評価 A (研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの進展が認められる)

本研究領域は、生命活動の基盤をなす細胞機能を司るクロマチン構造に焦点を当て、その構造、動態、機能の關係の解明から、その動的な実体に迫ることを目指すものである。原子分解能レベルから高次機能レベルまで幅広い研究階層をカバーする研究内容に対応し、異なる階層を専門とする研究者間の共同研究を積極的に推進することで、個々の成果に加え階層横断的な成果を上げており評価できる。若手研究者育成に関しても、若手の会の発足、若手研究者を対象とした講習会の開催など期待の持てる活動を行っており評価できる。今後は、国際連携、シミュレーションや理論研究の強化を進め、「動的クロマチン構造」という概念で示される本研究領域の方向性を、より明確にするような傑出した成果を上げることを期待する。

#### コメント(1): 国際連携の強化

国際連携を強化するために、国際活動支援班の予算に応募し採択された。その予算を活用し、アメリカ・コロラドで“Colorado Chromatin Meeting”を、スイス・バーゼルで第1回目の“Swiss-Japan Symposium”“Chromatin Structure and Dynamics”を、日本・東京で第2回目の“Swiss-Japan Symposium”“Chromatin Structure and Dynamics”を、ドイツ・ミュンヘンで“HMGU-Japan Epigenetics and Chromatin Meeting”を開催し、世界的クロマチン研究の動向に関する情報収集と国内外のネットワーク形成の強化を図った。本領域関係者の開発したヌクレオソーム試験管内再構成法(胡桃坂)やFabLEM法(木村)、Mintbody法(木村)、LiveCLEM法(原口)、長時間生細胞イメージング法(山縣)などの生細胞蛍光イメージング法については、海外からの問い合わせが多いため、海外の研究者を招いて実技講習会を開催した(その成果として以下の4報の論文を報告した(Kaur et al, *Mol Biol Cell*, 2017; Sparvoli et al, *Curr Biol*, 2018; Ruppert et al, *EMBO J*, 2018; Parry et al, *Nat Commun*, 2018)。若手研究者を海外研究室へ派遣したり、海外の研究者を招いたりすることで議論を深め、相互に技術交換を行うことで、国際共同研究を促進した。

#### コメント(2): シミュレーションや理論研究の強化

計画研究の河野に加え、公募研究として高田彰二氏(京大)を採択、さらに総括班評価者の木村暁教授(遺伝研)にご意見を頂き、シミュレーション研究を強化した。その結果、河野は、ヒストンテールの化学修飾が自由エネルギーを調節する働きがあることを発見した(Li & Kono, *Sci Rep*, 2016; Ishida & Kono, *Biophys J*, 2017; Kono et al, *PLoS Comput Biol*, 2018)。また、胡桃坂が進めるオーバーラッピングジヌクレオソーム(2つのヌクレオソームが合体した)構造の解明に貢献した(Kato et al, *Science*, 2017)。さらに、取得したクライオ電子顕微鏡画像を解析するためのプログラムを開発し、セントロメアヌクレオソームの特殊な“開いた”構造の生物学的な意義を説明できる結果を得ている(論文準備中)。高田は、独自の粗視化分子シミュレーションによってヌクレオソーム構造を解析し、ヘテロクロマチンタンパク質 HP1 とヌクレオソーム構造との関係(Watanabe et al, *Biophys J*, 2018)や、ヌクレオソームのスライディング機構(Niina et al, *PLoS Comp Biol*, 2017; Brandani et al, *Nuclei Acids Res*, 2018)を提唱した。

## 5. 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 ページ以内）

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。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限る こととします。

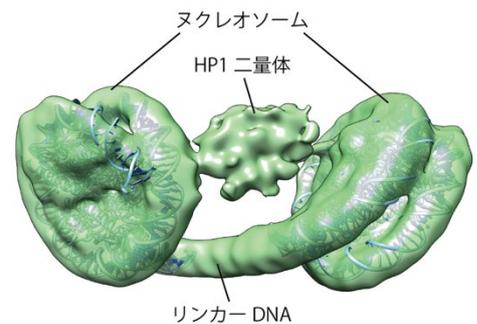
以下に示す論文については、すべて査読あり

### <計画研究>

A01 (計画・胡桃坂、堀)

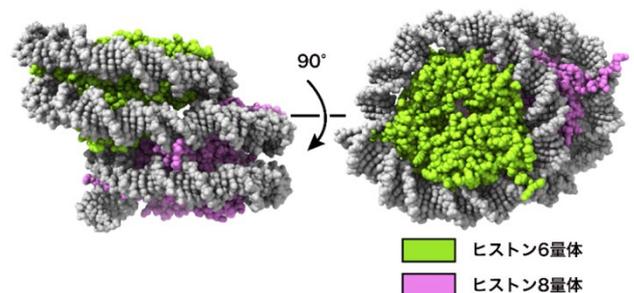
Machida S, Takizawa Y, Ishimaru M, Sugita Y, Sekine S, Nakayama JI, Wolf M, Kurumizaka H, Structural Basis of Heterochromatin Formation by Human HP1. *Molecular Cell* 69, 385-397, (2018).

胡桃坂は領域内の共同研究(中山)により、**構成的ヘテロクロマチンの基本単位である HP1-ジヌクレオソーム複合体**を試験管内で再構成し、クライオ電子顕微鏡単粒子解析法を用いて**立体構造を明らかにした**(右図)。本論文により、構成的ヘテロクロマチンで HP1 二量体は、2 つのヌクレオソームをブリッジする構造をとっていることが、世界で初めて明らかになった。また、HP1 二量体は、リンカーDNA には結合しておらず、他のヘテロクロマチン構成因子が結合できる状態になっていることも明らかになった。本研究成果は、日本経済新聞、沖縄タイムス、科学新聞に掲載された。



Kato D, Osakabe A, Arimura Y, Mizukami Y, Horikoshi N, Saikusa K, Akashi S, Nishimura Y, Park SY, Nogami J, Maehara K, Ohkawa Y, Matsumoto A, Kono H, Inoue R, Sugiyama M, Kurumizaka H, Crystal structure of the overlapping dinucleosome composed of hexasome and octasome. *Science* 356, 205-208, (2017).

胡桃坂は領域内の共同研究(杉山、河野、大川)により、試験管内でオーバーラッピングジヌクレオソームを再構成し、X 線結晶構造解析の手法によって、**3.14 Å の分解能でオーバーラッピングジヌクレオソームの立体構造を明らかにした**(右図)。本論文によって、通常のヌクレオソーム(ヒストン 8 量体に DNA が巻きついたヌクレオソーム)とは異なる特殊なヌクレオソームの原子分解能での立体構造が世界で初めて明らかになった。この成果は、朝日新聞、日刊工業新聞、日経産業新聞、科学新聞などに掲載され、テレ朝 news で取り上げられた。



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

堀は領域内の共同研究(木村)により、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。

A01 (計画・木村、山縣)

\*Ueda J, Harada A, Urahama T, Machida S, Maehara K, Hada M, Makino Y, Nogami J, Horikoshi N, Osakabe A, Taguchi H, Tanaka H, Tachiwana H, Yao T, Yamada M, Iwamoto T, Isotani A, Ikawa M, Tachibana T, Okada Y, Kimura H, Ohkawa Y, Kurumizaka H, \*Yamagata K. Testis-Specific Histone Variant H3t Gene Is Essential for Entry into Spermatogenesis. *Cell Reports* 18, 593-600, (2017).

山縣と上田(公募研究代表)は領域内共同研究(大川、木村、胡桃坂)により、偽遺伝子だと思われていた **H3t 遺伝子がタンパク質をコードし、精子幹細胞が分化すると H3t が発現し、精子を作るのに必要不可欠であることを明らかにした**。H3t を失ったマウスは見かけ上全く正常に発育し健康だったが、雄が無精子症となり、完全に不妊になることが分かった。このことから、H3t 遺伝子は精子形成に特化したヒストンタンパク質をコードしていると考えられる。本研究の成果は日刊工業新聞、毎日新聞、産経新聞、朝日新聞、中日新聞、日経新聞、東海テレビ、NHK(中部7県)などで取り上げられた。

\*Sato Y, Kujirai T, Arai R, Asakawa H, Ohtsuki C, Horikoshi N, Yamagata K, Ueda J, Nagase T, Haraguchi T, Hiraoka Y, Kimura A, Kurumizaka H, \*Kimura H. A Genetically Encoded Probe for Live-Cell Imaging of H4K20 Monomethylation.

Journal of Molecular Biology 428, 3885-3902, (2016).

木村は領域内の共同研究(浅川、山縣、上田、原口、平岡、胡桃坂)により、**H4K20me1** を特異的に染色できる **Mintbody** を開発した。この mintbody は、フレームワーク領域内のわずか 1 アミノ酸の違いにより、細胞内での安定性が著しく低下することが明らかとなった。結晶構造解析の結果、イムノグロブリンフォールド内の疎水性相互作用をより安定化させるようなアミノ酸置換により細胞内機能が改善することがわかった。

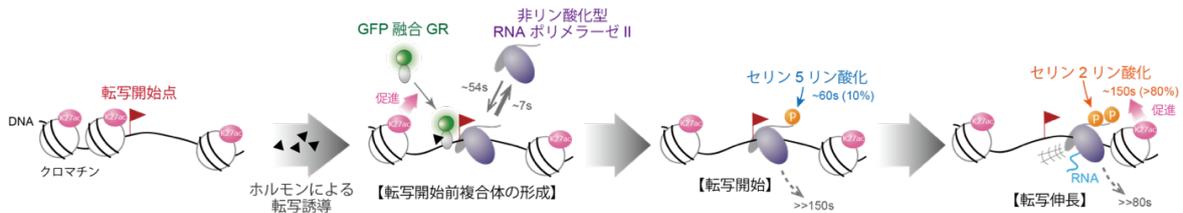
Ueda J, Maehara K, Mashiko D, Ichinose T, Yao T, Horii M, Sato Y, Kimura H, Ohkawa Y, \*Yamagata K. Heterochromatin Dynamics during the Differentiation Process Revealed by the DNA Methylation Reporter Mouse, MethylRO. *Stem Cell Reports* 2, 910-924, (2014).

山縣は領域内の共同研究(大川及び木村)により、**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(右図)。日刊工業新聞、日経バイオテック、産経新聞、サイエンスポータル、朝日新聞、日本経済新聞に取り上げられた。



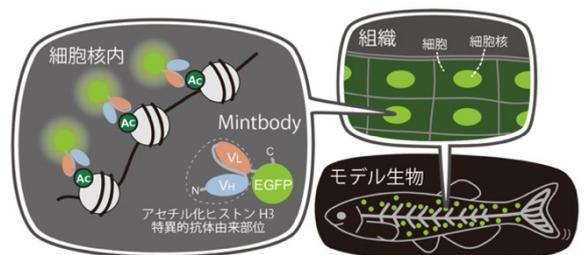
Stasevich TJ, Hayashi-Takanaka Y, Sato Y, Maehara K, Ohkawa Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Nagase T, Nozaki N, McNally JG, \*Kimura H. Regulation of RNA polymerase II activation by histone acetylation in single living cells. *Nature* 516, 272-275, (2014).

木村は領域内の共同研究(大川、徳永)により、**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(下図)。それを用いて、転写開始から伸長までの化学反応の時間変化を計測し、ヒストン修飾による転写キネティックスの制御を明らかにした。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。化学工業日報、科学新聞、日経産業新聞、日経バイオテック ONLINE、Nature Reviews Molecular Cell Biology で取り上げられた。



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. Genetically encoded system to track histone modification in vivo. *Scientific Reports* 3, 2436, (2013).

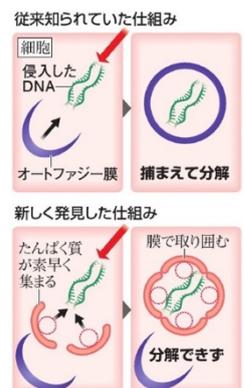
木村は領域内の共同研究(小布施、胡桃坂及び山縣)により、細胞内にヒストン修飾を認識する抗体由来の一本鎖可変領域を蛍光タンパク質との融合タンパク質を発現させ、**ヒストン修飾状態の変化を生きた細胞で可視化できる Mintbody の開発に成功した**(右図)。本手法は、遺伝子導入が可能なすべてのモデル生物に応用することができるため、発生・分化に伴うヒストン修飾動態の解明やエピゲノムを標的とした創薬開発等への幅広い貢献が期待できる。



A01 (計画・原口・浅川)

Kobayashi S, Koujin T, Kojidani T, Osakada H, Mori C, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. BAF is a cytosolic DNA sensor that leads to exogenous DNA avoiding autophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112, 7027-7032 (2015).

原口は領域内の共同研究(平岡)により、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(右図)。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。この成果は、毎日新聞、朝日新聞、神戸新聞、日刊工業新聞、科学新聞、日経産業新聞、NHK サイエンス ZERO などに取りあげられた。



A01 (計画・斉藤、原田)

Tomita S, Abdalla MO, Fujiwara S, Matsumori H, Maehara K, Ohkawa Y, Iwase H, \*Saitoh N, \*Nakao M. A cluster of

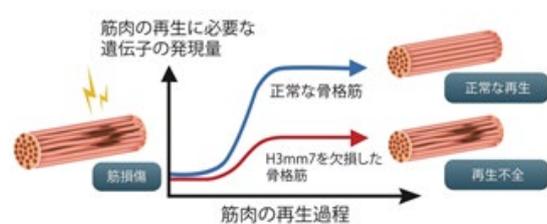
noncoding RNAs activates the ESR1 locus during breast cancer adaptation. *Nature Communications* 6, 6966, (2015).

齊藤は領域内の共同研究(大川)により、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。熊本日日新聞、毎日新聞、日刊工業新聞、産業新聞、KAB ニュース、NHPK ニュース、RKK ニュースなどで取り上げられた。

A01 (計画・大川)

Harada A, Maehara K, Ono Y, Taguchi H, Yoshioka K, Kitajima Y, Xie Y, Sato Y, Iwasaki T, Nogami J, Okada S, Komatsu T, Semba Y, Takemoto T, Kimura H, Kurumizaka H, \*Ohkawa Y. Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration. *Nature Communications* 9, 1400, (2018).

大川は領域内の共同研究(胡桃坂、木村)により、機能未知のヒストン亜種 H3mm7 がマウス骨格筋幹細胞に高発現しており、H3mm7 遺伝子を欠損したマウスでは筋損傷後に骨格筋再生不全を呈することから、筋損傷後の骨格筋再生に重要であることを明らかにした。また、ヒストン H3mm7 は弛緩しやすいヌクレオソームを形成することで、ゲノム全体の遺伝子の転写活性を高めることを示した(右図)。本研究は、骨格筋幹細胞が担う、速やかな分化増殖能にヒストン亜種による特異的なクロマチン構造が重要であることを示しており、今後の幹細胞研究や再生医療への発展やクロマチン構造研究への貢献が期待される。



#### <公募研究>

Itoh G, Ikeda M, Iemura K, Amin MA, Kuriyama S, Tanaka M, Mizuno N, Osakada H, Haraguchi T, \*Tanaka K. Lateral attachment of kinetochores to microtubules is enriched in prometaphase rosette and facilitates chromosome alignment and bi-orientation establishment. *Scientific Reports* 8, 3888, (2018).

田中は領域内の共同研究(原口)により、分裂期での染色体分配と微小管結合との関係をイメージングの手法を使って解析し、前中期に染色体がまず微小管の側面に結合することが、その後の微小管との末端結合に重要であることを発見した。

Shintomi K, Inoue F, Watanabe H, Ohsumi K, Ohsugi M, \*Hirano T. Mitotic chromosome assembly despite nucleosome depletion in *Xenopus* egg extracts. *Science* 356, 1284-1287, (2017).

新富は領域内の共同研究(大杉)により、ヌクレオソームを除去した卵抽出液を使って、分裂期染色体を試験管内で形成させることに成功し、分裂期染色体形成にヌクレオソームが必要無いことを証明した。

Amamoto Y, Aoi Y, Nagashima N, Suto H, Yoshidome D, Arimura Y, Osakabe A, Kato D, Kurumizaka H, \*Kawashima SA, \*Yamatsugu K, \*Kanai M. Synthetic Posttranslational Modifications: Chemical Catalyst-Driven Regioselective Histone Acylation of Native Chromatin. *Journal of the American Chemical Society* 139, 7568-7576, (2017).

川島は領域内の共同研究(胡桃坂)により、ヒストンを選択的にアセチル化する人工触媒の開発に世界で初めて成功した。本論文ではヌクレオソームの特定のリジン残基をアセチル化する人工触媒について報告している。この論文の他に、ヒストンテイル内の複数のリジン残基を広範囲にアセチル化する触媒についても報告している(Ishiguro et al, *Chem*, 2017)。

Matsuda A, Chikashige Y, Ding DQ, Ohtsuki C, Mori C, Asakawa H, Kimura H, Haraguchi T, \*Hiraoka Y. Highly condensed chromatin is formed adjacent to subtelomeric and decondensed silent chromatin in fission yeast. *Nature Communications* 6, 7753, (2015).

平岡は領域内の共同研究(浅川、木村、原口)により、高度に凝縮したクロマチンは、テロメア近くにある転写不活性なクロマチンの領域に形成されることを明らかにした。本研究で、分裂酵母の染色体を高い分解能で観察することができる蛍光イメージング法として三次元構造化照明法(3D-SIM)を確立した。

\*Sugiyama M, Horikoshi N, Suzuki Y, Taguchi H, Kujirai T, Inoue R, Oba Y, Sato N, Martel A, Porcar L, \*Kurumizaka H. Solution structure of variant H2A.Z.1 nucleosome investigated by small-angle X-ray and neutron scatterings. *Biochemistry and Biophysics Reports* 4, 28-32, (2015).

杉山は領域内の共同研究(胡桃坂)により、ヌクレオソームの溶液中での構造を X 線小核散乱法と中性子散乱法で解析した。その結果、通常のカノニカルヒストンヌクレオソームとヒストンバリエント H2A.Z.1 ヌクレオソームの構造的な違いを発見した。

## 6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ以内）

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。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 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。
- 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。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したものの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したものについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください。）。
- 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。

A01(計画・胡桃坂、堀) 計94件(査読有94件、査読無0件)

- ◎▲Takizawa Y, Tanaka H, Machida S, Koyama M, Maehara K, Ohkawa Y, Wade PA, \*Wolf M, \*Kurumizaka H. Cryo-EM structure of the nucleosome containing the ALB1 enhancer DNA sequence. *Open Biol.* 8, 170255, 2018.
- ◎▲Machida S, Takizawa Y, Ishimaru M, Sugita Y, Sekine S, Nakayama JI, \*Wolf M, \*Kurumizaka H. Structural Basis of Heterochromatin Formation by Human HP1. *Mol Cell.* 69, 385-397, 2018.
- ▲Hori T, Shang WH, Hara M, Ariyoshi M, Arimura Y, Fujita R, Kurumizaka H, \*Fukagawa T. Association of M18BP1/KNL2 with CENP-A Nucleosome Is Essential for Centromere Formation in Non-mammalian Vertebrates. *Dev Cell.* 42, 181-189, 2017.
- ◎▲Kato D, Osakabe A, Arimura Y, Mizukami Y, Horikoshi N, Saikusa K, Akashi S, Nishimura Y, Park SY, Nogami J, Maehara K, Ohkawa Y, Matsumoto A, Kono H, Inoue R, Sugiyama M, \*Kurumizaka H. Crystal structure of the overlapping dinucleosome composed of hexasome and octasome. *Science.* 356, 205-208, 2017.
- ◎▲Taguchi H, Xie Y, Horikoshi N, Maehara K, Harada A, Nogami J, Sato K, Arimura Y, Osakabe A, Kujirai T, Iwasaki T, Semba Y, Tachibana T, Kimura H, \*Ohkawa Y, \*Kurumizaka H. Crystal Structure and Characterization of Novel Human Histone H3 Variants, H3.6, H3.7, and H3.8. *Biochemistry.* 56, 2184-2196, 2017.
- ◎▲Osakabe A, Arimura Y, Matsumoto S, Horikoshi N, Sugasawa K, \*Kurumizaka H. Polymorphism of apyrimidinic DNA structures in the nucleosome. *Sci Rep.* 7, 41783, 2017.
- ▲Hori T, Kagawa N, Toyoda A, Fujiyama A, Misu S, Monma N, Makino F, Ikey K, \*Fukagawa T. Constitutive centromere-associated network controls centromere drift in vertebrate cells. *J Cell Biol.* 216, 101-113, 2017.
- ◎▲Koyama M, Nagakura W, Tanaka H, Kujirai T, Chikashige Y, Haraguchi T, Hiraoka Y, \*Kurumizaka H. In vitro reconstitution and biochemical analyses of the Schizosaccharomyces pombe nucleosome. *Biochem Biophys Res Commun.* 482, 896-901, 2017.
- ▲Sato K, Shimomuki M, Katsuki Y, Takahashi D, Kobayashi W, Ishiai M, Miyoshi H, Takata M, \*Kurumizaka H. FANCI-FANCD2 stabilizes the RAD51-DNA complex by binding RAD51 and protects the 5'-DNA end. *Nucleic Acids Res.* 44, 10758-10771, 2016.
- ◎▲Horikoshi N, Arimura Y, Taguchi H, \*Kurumizaka H. Crystal structures of heterotypic nucleosomes containing histones H2A.Z and H2A. *Open Biol.* 6, 160127, 2016.
- ◎▲Machida S, Sekine S, Nishiyama Y, Horikoshi N, \*Kurumizaka H. Structural and biochemical analyses of monoubiquitinated human histones H2B and H4. *Open Biol.* 6, 160090, 2016.
- ◎▲Kobayashi W, Takaku M, Machida S, Tachiwana H, Maehara K, Ohkawa Y, \*Kurumizaka H. Chromatin architecture may dictate the target site for DM1, but not for RAD51, during homologous pairing. *Sci Rep.* 6, 24228, 2016.
- ◎▲Kujirai T, Horikoshi N, Sato K, Maehara K, Machida S, Osakabe A, Kimura H, Ohkawa Y, \*Kurumizaka H. Structure and function of human histone H3.Y nucleosome. *Nucleic Acids Res.* 44, 6127-6141, 2016.
- ◎▲Urahama T, Harada A, Maehara K, Horikoshi N, Sato K, Sato Y, Shiraiishi K, Sugino N, Osakabe A, Tachiwana H, Kagawa W, Kimura H, Ohkawa Y, \*Kurumizaka H. Histone H3.5 forms an unstable nucleosome and accumulates around transcription start sites in human testis. *Epigenetics Chromatin.* 9, 2, 2016.
- ▲Machida S, Hayashida R, Takaku M, Fukuto A, Sun J, Kinomura A, Tashiro S, \*Kurumizaka H. Relaxed Chromatin Formation and Weak Suppression of Homologous Pairing by the Testis-Specific Linker Histone H1T. *Biochemistry.* 55, 637-646, 2016.
- ◎▲Osakabe A, Tachiwana H, Kagawa W, Horikoshi N, Matsumoto S, Hasegawa M, Matsumoto N, Toga T, Yamamoto J, Hanaoka F, Thomä NH, Sugasawa K, Iwai S, \*Kurumizaka H. Structural basis of pyrimidine-pyrimidone (6-4) photoproduct recognition by UV-DDB in the nucleosome. *Sci Rep.* 5, 16330, 2015.
- ◎▲Osakabe A, Adachi F, Arimura Y, Maehara K, Ohkawa Y, \*Kurumizaka H. Influence of DNA methylation on positioning and DNA flexibility of nucleosomes with pericentric satellite DNA. *Open Biol.* 5, 150128, 2015.
- ◎▲\*Kagawa W, Arai T, Ishikura S, \*Kino K, Kurumizaka H. Structure of RizA, an L-amino-acid ligase from *Bacillus subtilis*. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.* 71, 1125-1130, 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. Stable complex formation of CENP-B with the CENP-A nucleosome. *Nucleic Acids Res.* 43, 4909-4922, 2015.
- ▲Kato D, Osakabe A, Tachiwana H, Tanaka H, \*Kurumizaka H. Human tNASP promotes in vitro nucleosome assembly with histone H3.3. *Biochemistry.* 54, 1171-1179, 2015.
- ◎▲Arimura Y, Shirayama K, Horikoshi N, Fujita R, Taguchi H, Kagawa W, Fukagawa T, Almouzni G, \*Kurumizaka H. Crystal structure and stable property of the cancer-associated heterotypic nucleosome containing CENP-A and H3.3. *Sci Rep.* 4, 7115, 2014.

A01 (計画・河野) 計 14 件 (査読有 14 件、査読無 0 件)

1. ◎▲\*Kono H, Sakuraba S, Ishida H. Free energy profiles for unwrapping the outer superhelical turn of nucleosomal DNA. *PLoS Comput Biol.* 14, e1006024, 2018.
2. ◎▲\*Ishida H, Kono H. H4 Tails Potentially Produce the Diversity in the Orientation of Two Nucleosomes. *Biophys J.* 113, 978-990, 2017.
3. ◎▲Li Z, \*Kono H. Distinct Roles of Histone H3 and H2A Tails in Nucleosome Stability. *Sci Rep.* 6, 31437, 2016.

A01 (計画・小布施) 計 26 件 (査読有 26 件、査読無 0 件)

1. ◎▲Isobe SY, Nagao K, Nozaki N, Kimura H, \*Obuse C. Inhibition of RIF1 by SCAI Allows BRCA1-Mediated Repair. *Cell Rep.* 20, 297-307, 2017.

A01 (計画・木村、山縣) 計 97 件 (査読有 95 件、査読無 2 件)

1. ◎▲\*Yamazaki T, Hatano Y, Handa T, Kato S, Hoida K, Yamamura R, Fukuyama T, Uematsu T, Kobayashi N, Kimura H, \*Yamagata K. Targeted DNA methylation in pericentromeres with genome editing-based artificial DNA methyltransferase. *PLoS One.* 12, e0177764, 2017.
2. ◎▲\*Ueda J, Harada A, Urahama T, Machida S, Maehara K, Hada M, Makino Y, Nogami J, Horikoshi N, Osakabe A, Taguchi H, Tanaka H, Tachiwana H, Yao T, Yamada M, Iwamoto T, Isotani A, Ikawa M, Tachibana T, Okada Y, Kimura H, Ohkawa Y, Kurumizaka H, \*Yamagata K. Testis-Specific Histone Variant H3t Gene Is Essential for Entry into Spermatogenesis. *Cell Rep.* 18, 593-600, 2017.
3. ◎▲\*Sato Y, Kujirai T, Arai R, Asakawa H, Ohtsuki C, Horikoshi N, Yamagata K, Ueda J, Nagase T, Haraguchi T, Hiraoka Y, Kimura A, Kurumizaka H, \*Kimura H. A Genetically Encoded Probe for Live-Cell Imaging of H4K20 Monomethylation. *J Mol Biol.* 428, 3885-3902, 2016.
4. ◎▲Dias JD, Rito T, Torlai Triglia E, Kukalev A, Ferrai C, Chotalia M, Brookes E, \*Kimura H, \*Pombo A. Methylation of RNA polymerase II non-consensus Lysine residues marks early transcription in mammalian cells. *Elife.* 4, 2015.
5. ◎▲Hayashi-Takanaka Y, Maehara K, Harada A, Umehara T, Yokoyama S, Obuse C, Ohkawa Y, Nozaki N, \*Kimura H. Distribution of histone H4 modifications as revealed by a panel of specific monoclonal antibodies. *Chromosome Res.* 23, 753-766, 2015.
6. ◎\*Stasevich TJ, Hayashi-Takanaka Y, Sato Y, Maehara K, Ohkawa Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Nagase T, Nozaki N, McNally JG, \*Kimura H. Regulation of RNA polymerase II activation by histone acetylation in single living cells. *Nature.* 516, 272-275, 2014.
7. ◎Ueda J, Maehara K, Mashiko D, Ichinose T, Yao T, Hori M, Sato Y, Kimura H, Ohkawa Y, \*Yamagata K. Heterochromatin dynamics during the differentiation process revealed by the DNA methylation reporter mouse, MethylRO. *Stem Cell Reports.* 2, 910-924, 2014.

A01 (計画・原口、浅川) 計 50 件 (査読有 49 件、査読無 1 件)

1. ◎▲Tsuchiya M, \*Ogawa H, Koujin T, Mori C, Osakada H, Kobayashi S, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. p62/SQSTM1 promotes rapid ubiquitin conjugation to target proteins after endosome rupture during xenophagy. *FEBS Open Bio.* 8, 470-480, 2018.
2. ◎▲Hirano Y, Kinugasa Y, Asakawa H, Chikashige Y, Obuse C, Haraguchi T, \*Hiraoka Y. Lem2 is retained at the nuclear envelope through its interaction with Bqt4 in fission yeast. *Genes Cells.* 23, 122-135, 2018.
3. ◎▲Iwamoto M, Osakada H, Mori C, Fukuda Y, Nagao K, Obuse C, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. Compositionally distinct nuclear pore complexes of functionally distinct dimorphic nuclei in the ciliate Tetrahymena. *J Cell Sci.* 130, 1822-1834, 2017.
4. ◎▲Tange Y, Chikashige Y, Takahata S, Kawakami K, Higashi M, Mori C, Kojidani T, Hirano Y, Asakawa H, Murakami Y, \*Haraguchi T, \*Hiraoka Y. Inner nuclear membrane protein Lem2 augments heterochromatin formation in response to nutritional conditions. *Genes Cells.* 21, 812-832, 2016.
5. ◎▲Asakawa H, Yang HJ, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. Virtual Nuclear Envelope Breakdown and Its Regulators in Fission Yeast Meiosis. *Front Cell Dev Biol.* 4, 5, 2016.
6. ◎Kobayashi S, Koujin T, Kojidani T, Osakada H, Mori C, Hiraoka Y, \*Haraguchi T. BAF is a cytosolic DNA sensor that leads to exogenous DNA avoiding autophagy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112, 7027-7032, 2015.

A01 (計画・徳永) 計 7 件 (査読有 7 件、査読無 0 件)

1. ◎▲Ito Y, \*Sakata-Sogawa K, \*Tokunaga M. Multi-color single-molecule tracking and subtrajectory analysis for quantification of spatiotemporal dynamics and kinetics upon T cell activation. *Sci Rep.* 7, 6994, 2017.

A01 (計画・米田、岡、安原) 計 20 件 (査読有 20 件、査読無 0 件)

1. ◎▲Yasuhara N, \*Kumar PK. Aptamers that bind specifically to human KPNA2 (importin- $\alpha$ 1) and efficiently interfere with nuclear transport. *J Biochem.* 160, 259-268, 2016.
2. ▲Moriyama T, Tanaka S, Nakayama Y, Fukumoto M, Tsujimura K, Yamada K, Bamba T, \*Yoneda Y, Fukusaki E, \*Oka M. Two isoforms of TALDO1 generated by alternative translational initiation show differential nucleocytoplasmic distribution to regulate the global metabolic network. *Sci Rep.* 6, 34648, 2016.
3. ◎\*Oka M, Mura S, Yamada K, Sangel P, Hirata S, Maehara K, Kawakami K, Tachibana T, Ohkawa Y, Kimura H, Yoneda Y. Chromatin-prebound Crml1 recruits Nup98-HoxA9 fusion to induce aberrant expression of Hox cluster genes. *Elife.* 5, e09540, 2016.

A01 (計画・斉藤、原田) 計 28 件 (査読有 27 件、査読無 1 件)

1. ▲Kusakabe M, Oku H, Matsuda R, Hori T, Muto A, Igarashi K, Fukagawa T, \*Harata M. Genetic complementation analysis showed distinct contributions of the N-terminal tail of H2A.Z to epigenetic regulations. *Genes Cells*. 21, 122-135, 2016.
2. ▲Kitamura H, Matsumori H, Kalendova A, Hozak P, Goldberg IG, Nakao M, Saitoh N, \*Harata M. The actin family protein ARP6 contributes to the structure and the function of the nucleolus. *Biochem Biophys Res Commun*. 464, 554-560, 2015.
3. ◎▲Tomita S, Abdalla MO, Fujiwara S, Matsumori H, Maehara K, Ohkawa Y, Iwase H, \*Saitoh N, \*Nakao M. A cluster of noncoding RNAs activates the ESR1 locus during breast cancer adaptation. *Nat Commun*. 6, 6966, 2015.
4. ◎▲Tokunaga K, \*Saitoh N, Goldberg IG, Sakamoto C, Yasuda Y, Yoshida Y, Yamanaka S, \*Nakao M. Computational image analysis of colony and nuclear morphology to evaluate human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep*. 4, 6996, 2014.

A01 (計画・大川)

計 74 件 (査読有 74 件、査読無 0 件)

1. ◎▲Harada A, Maehara K, Ono Y, Taguchi H, Yoshioka K, Kitajima Y, Xie Y, Sato Y, Iwasaki T, Nogami J, Okada S, Komatsu T, Semba Y, Takemoto T, Kimura H, Kurumizaka H, \*Ohkawa Y. Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration. *Nat Commun*. 9, 1400, 2018.
2. ◎▲Kudou K, Komatsu T, Nogami J, Maehara K, Harada A, Saeki H, Oki E, Maehara Y, \*Ohkawa Y. The requirement of Mettl3-promoted MyoD mRNA maintenance in proliferative myoblasts for skeletal muscle differentiation. *Open Biol*. 7, 170119, 2017.
3. ◎▲Semba Y, Harada A, Maehara K, Oki S, Meno C, Ueda J, Yamagata K, Suzuki A, Onimaru M, Nogami J, Okada S, Akashi K, \*Ohkawa Y. Chd2 regulates chromatin for proper gene expression toward differentiation in mouse embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res*. 45, 8758-8772, 2017.
4. ◎▲Kuniyoshi Y, Maehara K, Iwasaki T, Hayashi M, Semba Y, Fujita M, Sato Y, Kimura H, Harada A, \*Ohkawa Y. Identification of Immunoglobulin Gene Sequences from a Small Read Number of mRNA-Seq Using Hybridomas. *PLoS One*. 11, e0165473, 2016.
5. ◎▲Maehara K, Harada A, Sato Y, Matsumoto M, Nakayama KI, Kimura H, \*Ohkawa Y. Tissue-specific expression of histone H3 variants diversified after species separation. *Epigenetics Chromatin*. 8, 35, 2015.
6. ◎▲Harada A, Mallappa C, Okada S, Butler JT, Baker SP, Lawrence JB, \*Ohkawa Y, \*Imbalzano AN. Spatial reorganization of myogenic regulatory sequences temporally controls gene expression. *Nucleic Acids Res*. 43, 2008-21, 2015.
7. ◎▲Harada A, Maehara K, Sato Y, Konno D, Tachibana T, Kimura H, \*Ohkawa Y. Incorporation of histone H3.1 suppresses the lineage potential of skeletal muscle. *Nucleic Acids Res*. 43, 775-786, 2015.

A01 (公募・田中)

計 13 件 (査読有 13 件、査読無 0 件)

1. ◎Itoh G, Ikeda M, Iemura K, Amin MA, Kuriyama S, Tanaka M, Mizuno N, Osakada H, Haraguchi T, \*Tanaka K. Lateral attachment of kinetochores to microtubules is enriched in prometaphase rosette and facilitates chromosome alignment and bi-orientation establishment. *Sci Rep*. 8, 3888, 2018.
2. ◎▲Tanaka K, \*Hirota T. Chromosomal instability: A common feature and a therapeutic target of cancer. *Biochim Biophys Acta*. 1866, 64-75, 2016.

A01 (公募・杉山)

計 4 件 (査読有 4 件、査読無 0 件)

1. ◎▲\*Sugiyama M, Horikoshi N, Suzuki Y, Taguchi H, Kujirai T, Inoue R, Oba Y, Sato N, Martel A, Porcar L, \*Kurumizaka H. Solution structure of variant H2A.Z.1 nucleosome investigated by small-angle X-ray and neutron scatterings. *Biochem Biophys Res Commun*. 4, 28-32, 2015.
2. ◎▲\*Sugiyama M, Arimura Y, Shirayama K, Fujita R, Oba Y, Sato N, Inoue R, Oda T, Sato M, Heenan RK, \*Kurumizaka H. Distinct features of the histone core structure in nucleosomes containing the histone H2A.B variant. *Biophys J*. 106, 2206-13, 2014.

A01 (公募・平岡)

計 47 件 (査読有 46 件、査読無 1 件)

1. ◎▲Ding DQ, Matsuda A, Okamasa K, Nagahama Y, Haraguchi T, \*Hiraoka Y. Meiotic cohesin-based chromosome structure is essential for homologous chromosome pairing in *Schizosaccharomyces pombe*. *Chromosoma*. 125, 205-214, 2016.
2. ◎Ruan K, Yamamoto TG, Asakawa H, Chikashige Y, Kimura H, Masukata H, Haraguchi T, \*Hiraoka Y. Histone H4 acetylation required for chromatin decompaction during DNA replication. *Sci Rep*. 5, 12720, 2015.
3. ◎Matsuda A, Chikashige Y, Ding DQ, Ohtsuki C, Mori C, Asakawa H, Kimura H, Haraguchi T, \*Hiraoka Y. Highly condensed chromatins are formed adjacent to subtelomeric and decondensed silent chromatin in fission yeast. *Nat Commun*. 6, 7753, 2015.

A01 (公募・その他)

計 196 件 (査読有 188 件、査読無 8 件)

1. ◎▲Watanabe S, Mishima Y, Shimizu M, \*Suetake I, \*Takada S. Interactions of HP1 bound to H3K9me3 di-nucleosome by molecular simulations and biochemical assays. *Biophysical Journal*. Online 2018.
2. ◎▲Brandani GB, Niina T, Tan C, \*Takada S. DNA sliding in nucleosomes via twist defect propagation revealed by molecular simulations. *Nucleic Acids Res*. 46, 2788-2801, 2018.
3. ◎▲Sakata Y, Nagao K, Hoki Y, Sasaki H, Obuse C, \*Sado T. Defects in dosage compensation impact global gene regulation in the mouse trophoblast. *Development*. 144, 2784-2797, 2017.
4. ▲Shintomi K, Inoue F, Watanabe H, Ohsumi K, Ohsugi M, \*Hirano T. Mitotic chromosome assembly despite nucleosome depletion in *Xenopus* egg extracts. *Science*. 356, 1284-1287, 2017.
5. ◎▲Amamoto Y, Aoi Y, Nagashima N, Suto H, Yoshidome D, Arimura Y, Osakabe A, Kato D, Kurumizaka H, \*Kawashima SA, \*Yamatsugu K, \*Kanai M. Synthetic Posttranslational Modifications: Chemical Catalyst-Driven Regioselective Histone Acylation of Native Chromatin. *J Am Chem Soc*. 139, 7568-7576, 2017.

## 【書籍】編著書籍 2編、その他 115件

胡桃坂仁志:がん基盤生物学(清木元治)、2013、南山堂、179-184; エピジェネティクスキーワード事典(牛島俊和、眞貝洋一)、2013、羊土社、85-88; 基礎コース 細胞生物学(永田恭介)、2013、東京化学同人、45-55; 構造生命科学で何がわかるのか、何ができるのか(田中啓二、若槻壮市)、2014、羊土社、216-220; 実験医学 Vol32 No.13.2014[通巻 541号]、2014、羊土社、2058-2063; Surgery frontier, 22 巻(2)、2015、メディカルレビュー社、51-55; ナノバイオ・メディシン:細胞核内反応とゲノム編集、2018、近代科学社; クロマチン構造基盤の多様性一古くて新しい動的構造体の不思議一 Structural Versatility of the Fundamental Unit of Chromatin、2015、ナノ学会会報、3-7; バイオニア転写因子によるクロマチン構造変換、2017、生体の科学、229-232 小布施力史:バーノ小体の正体-HBIX1-SMCHD1 複合体によるヒト不活性化 X 染色体の凝縮、2013、実験医学、1771-1775; 次世代シーケンサーを用いた網羅的エピジェネティクス解析: ChIP-seq 法など、2014、シーエムシー出版、120-127 木村宏:ヒストン H2A—最も多様性のあるコアヒストン、2014、実験医学、2087-2091; 転写、2015、生体の科学、468-469; スクレオソーム解析時代の幕開け、2016、細胞工学、66-69; 遺伝子活性化のしくみの生きた細胞内での観察、2016、パリティ 70-72; Nucleome 研究の世界動向、2017、実験医学、78-82; ゲノム、エピゲノムからヌクレオームへ: 遺伝情報発現制御機構の包括的理解に向けて、2017、情報管理、555-563; 生細胞イメージングによりとらえるクロマチンの修飾および遺伝子発現の活性化、2017、ライフサイエンス融合領域レビュー、e002; エピジェネティクスの生細胞イメージング技術、2014、シーエムシー出版、142-160; エピゲノム解析手法の標準化; ヒストン修飾解析、2017、羊土社、32-37 山縣一夫: DNA メチル化リポーターマウス「メチロー」を用いたメチル化 DNA の動態解析法、2015、実験医学、481-489; 生体応答や病変の動的解析をめざしたメチル化 DNA レポーターマウス「メチロー」の開発、2015、医学のあゆみ、523-524 徳永万喜洋: 1分子操作、2014、化学同人、215-227 米田悦啓、岡正啓: 第1章 生命の基本単位、2014、南山堂、p1-8; 第4章 オルガネラと疾患 4-1 核、2014、南山堂、p51-53; 第一部、創薬への長い道のり、2014、南山堂、p3-6; 核輸送因子インポータイン  $\alpha 1$  の新たな機能、2017、NTS、p285-294 斉藤典子: クロマチン構造と核異型、2014、病理と臨床、789-795; 機械学習による細胞形態の分類と推定、2014、バイオ画像解析、手とり足とりガイド、195-207; クロマチンを制御するノンコーディング RNA、2017、医学書院、「生体の科学」215-219; 核内コンパートメントの生物学的意義、2013、羊土社、91-98; 核内ボディーの構造・機能・形成機序、2013、化学同人、147-165; クロマチンから核構造へ、2017、東京化学同人、231-242 原田昌彦: アクチンファミリーによる細胞核・クロマチンの機能構造形成、2015、ナノ学会誌、73-77; アクチンファミリー分子によるクロマチン・細胞核機能制御、2015、生化学会誌、629-632; 翻訳の調節、2013、オーム社、216-241; ナノバイオ・メディシン: 細胞核内反応とゲノム編集、2018、近代科学社 大川恭行: エピジェネティクスで解く細胞運命制御、2013、羊土社、2083-2088; ヒストンバリエントによるエピゲノム制御、2014、羊土社、2064-2069; DNA メチル化リポーターマウス「メチロー」を用いたメチル化 DNA の動態解析法、2015、羊土社、481-489; コアヒストンとしての H2A、2015、メディカルレビュー社、56-58 田中耕三: 染色体不安定性とがん、2017、血液内科、117-122; 分裂期において染色体を効率的に運ぶための仕組み、2017、生化学、102-105; 「側面結合」との出会い、2016、細胞工学、95; 治療標的としての Aurora キナーゼによる動原体制御、2015、血液内科、712-717; 染色体不安定性の病態生理、2015、細胞、212-214 平岡泰&原口徳子: 染色体と細胞核のダイナミクス(平岡泰・原口徳子/編著)、2013、化学同人、224; 新・生細胞蛍光イメージング(原口徳子・木村宏・平岡泰/編著)、2015、共立出版、352 他、計 8 件、田代聡: スクレオームコンソシアム、2018、生物物理、2018; Nucleome 研究の世界動向、2017、実験医学、78-82; スクレオーム解析時代の幕開け、2016、細胞工学、66-69、CT における被ばくの生物学的影響、2018、メディカル・サイエンス・インターナショナル社、84-90 佐渡敬: エピジェネティクス、2014、オーム社、349-371; X 染色体不活性化、2017、東京化学同人、221-230; ncRNA の遺伝学的解析、2017、羊土社、299-310 小田 隆: 小角散乱と結晶構造の複合構造解析、2014、日本結晶学会誌、247-252 香川亘: 出芽酵母 Rad52 の相同組換えにおける分子メカニズム、2014、生化学、693-697 広田亨: ライブ・セル・イメージング解析を用いた細胞分裂研究法: バイオセンサーによる酵素活性の時空間的解析、2014、Surgery Frontier、205-209; 染色体不安定性の成因、2015、細胞、215-218; M 期における染色体構築のメカニズム、2017、生化学、515-524 新富圭史: 試験管内反応から見えてきた分裂期染色体構築のメカニズム、2015、細胞工学、1034-1039; 分裂期染色体をつくるためにヌクレオソームは本当に必須なのか?、2017、ライフサイエンス新着論文レビュー 中山潤一: ジャンク DNA ヒトゲノムの 98% はガラクタンなのか? (和訳)、2016、丸善出版、1-424; デザイナー・ベビーゲノム編集によって迫られる選択 (和訳)、2017、丸善出版、1-414 上田潤: 細胞 ヒストンバリエントとがん、2017、ニューサイエンス社、30-34; 別冊「BIO Clinica」ヒストンバリエントとがん、2017、北隆館社、153-157 宮本圭: 実験医学 次世代の核移植技術の利用に向けて、2016、羊土社、1328-1331

## 【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」ホームページ: <http://nucleosome.kyushu-u.ac.jp>

ニュースレター(1~20号): 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)、No.13(7月3日)、No.14(10月6日)、No.15(12月28日)。2016年: No.16(2月23日)、No.17(5月9日)、No.18(8月20日)。2017年: No.19(2月24日)。2018年: No.20(2月9日)。

## 【主な主催・共催シンポジウム・研究会】 28件 (以下に、一部を記載した)

- ・第1、2、3、4回一般公開シンポジウム、2013年8月25日(早稲田大学)、2015年1月12日(千里ライフサイエンスセンター)、2016年8月21日(早稲田大学)、2018年1月8日(早稲田大学)
- ・第22回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ、2013年11月20日~11月22日、ホテルニュー水戸屋、宮城県
- ・第31回 染色体 WS・第12回 核ダイナミクス研究会、2013年11月25日~11月27日、ホテルおかだ、神奈川県
- ・第9回 3R(DNA 複製、組換え、修復)に関する国際会議、2014年11月17日~21日、御殿場高原ホテル、静岡県
- ・一般公開シンポジウム第2弾「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、大阪府
- ・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3階、東京都
- ・International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics and Function、2015年8月23日~8月26日、淡路夢舞台、兵庫県
- ・International Symposium on Nuclear Structure and Epigenetics、2015年8月27日、熊本大学発生医学研究所、熊本県
- ・Colored Chromatin Meeting、2016年8月8日~8月9日、コロラド州立大学、アメリカ
- ・1st Japan-Swiss Symposium, Chromatin Structure and Dynamics、2017年1月20日~1月21日 Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research、スイス
- ・3領域合同若手勉強会2017、2017年6月7日~9日、南紀 白浜温泉 旅館むさし、和歌山県
- ・日本大学文理学部生命科学科セミナー、2017年6月24日~25日、日本大学文理学部図書館、東京都
- ・2nd Swiss-Japan Symposium、2017年8月10日、早稲田大学 先端生命医科学センター(TWIns)、東京都
- ・Meeting Japan-Helmholtz in Munich、2017年9月4日~9月5日、Helmholtz Zentrum Munchen、ドイツ
- ・第2、3、4、5回ヒストンバリエント研究会、2015年2月28日(東京工業大学)、2016年2月28日(早稲田大学)、2017年2月11日(東北大学)、2018年2月10日(首都大学東京)

【アウトリーチ活動】計 154 件（一般向け講演会・セミナー58 件、小・中・高向け授業・実験・実習 64 件、イベント参加・出展 18 件、広報誌・パンフレット 12 件、サイエンスカフェ 2 件）（以下に、一部を記載した）

胡桃坂仁志：（講演）東進ハイスクール 大学学部研究会 2013 東京国際フォーラム、東京都立多摩技術高等学校 科学技術アドバイザー特別授業、広島県立呉三津田高等学校、NIH セミナー “Structural basis of the centromeric chromatin formation”、同志社女子高等学校講演「遺伝子を操る染色体のしくみと創薬」、(株)リバネス バイオガレージセミナー「クロマチン機能制御機構の構造生物学的研究」、広島大クロマチン動態数理研究拠点ミニシンポジウム講演 “Contribution of histone variants in chromatin structure”、早稲田大学本庄高等学院、『生命現象を支配する遺伝子 DNA の発見から現在の生命科学へ』、第 35 回生命科学 DOKIDOKI 研究室、テルモ科学技術振興財団『ミュージシャンを夢見たが、生命科学の面白さに目覚め研究者に』、NEXT10 月号、サーモフィッシャー『留学記』、『遺伝子のすがたを原子レベルで見る』、早稲田大学商議会議「エピジェネティクス：生命の源である遺伝子の新しい制御メカニズム」、平成 29 年度創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム公開シンポジウム「エピジェネティクス研究と創薬のための再構成クロマチンの産生と性状解析」、量子ビームサイエンスフェスタ「自動化によって得られたものは？」、他 10 件 河野秀俊：（講演）HPCI 戦略プログラム分野 1 × 分野 2 in 名大シンポジウム「生体分子複合システムを計算する-相互作用は何をもたらすのか-」、分子シミュレーション、構造インフォマティクスから観るタンパク質-核酸認識機構、（講師）同志社大学、2014 第一回遺伝情報学研究室セミナー、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、他 4 件 木村宏：（講演）千里ライフサイエンスセミナー「エピジェネティクス制御からの生命活動の理解とその展望」コーディネーター、（講師）国際イメージングワークショップ（産総研）、(株)リバネス バイオガレージセミナー「クロマチン機能制御機構の構造生物学的研究」、第 2 回国際イメージング WS（産総研）、東京工業大学生命理工学院 高校生のための夏休み特別講習会「生きた細胞のなかの DNA の働き」、（監修）「DNA を調べよう」自由研究おたすけキット（学研）、（協力）DNA を知る：第 1 回 DNA、遺伝子、ゲノムの違いがわかりますか？ milsil（自然と科学の情報誌；国立科学博物館）山縣一夫：（講演）一般公開シンポジウム「DNA をあやつる生物のしくみ」、「ケンピロー先生がやってくる！」生駒市桜ヶ丘 1 学童保育所、「ケンピロー先生が帰ってきた！」生駒山麓公園 野外活動センター、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～」、（講師）和歌山放送近大ラジオ講座「ボックス！」、2016 年度第 7 回生物理工学部 BOST Science Café 公開講座、2017 年度第 7 回 BOST Science Café 公開講座、2017 年度中央区民カレッジ 安原徳子：（主催）日本大学セミナー、他 3 件 原口徳子：（主催及び講師）第 21 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、第 24 回電頭サマースクール、第 23 回細胞生物学ワークショップ、第 24 回細胞生物学ワークショップ、第 25 回細胞生物学ワークショップ、第 26 回細胞生物学ワークショップ、第 27 回細胞生物学ワークショップ、第 28 回細胞生物学ワークショップ、他 6 件 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」、一般公開シンポジウム第 2 弾「生き物細胞の設計図～DNA・クロマチン・核」、第 3 回女性研究者交流会、クロマチン動構造 第 3 回若手ワークショップ、クロマチン研究最前線 - 海外での研究生生活で学んだことを活かして -、一般公開シンポジウム 遺伝子研究の最前線 ミクロの世界に秘められた生命に謎にせまる、（講師）名古屋大学 生命理学特別講義 原田昌彦：（講師）長野県立諏訪清陵高校進路講話、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、（主催）酵母遺伝学シンポジウム第 46 回研究報告会、第 4 回ヒストンバリエーション研究会 大川恭行：（講演）Fukuoka International Symposium on Genomics & Epigenomics 2013、システム生命科学夏の学校「生命を形作る未知の暗号を解読する」、（主催）第 1 回トレーニングワークショップ（ChIP-Seq データ解析）、他 4 件 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 24 回細胞生物学ワークショップ、第 25 回細胞生物学ワークショップ、第 26 回細胞生物学ワークショップ、第 27 回細胞生物学ワークショップ、第 28 回細胞生物学ワークショップ 田代聡：（講演）Strengthening of Biological Dosimetry in IAEA Member States: Improvement of Current Techniques and Intensification of Collaboration and Networking among the Different Institutes, the 2nd Research 広田亨：（講演）東京都立日比谷高等学校講演「がんと染色体」、第 69 回日本臨床細胞学会細胞検査士教育セミナー「がんと染色体」他 3 件 加納純子：（主催及び講演）クロマチン動構造デユアトラックサバイバル物語、一般講演会（早稲田大学）、他 5 件 宮本圭：（講師）体験実習「モデル動物の卵の観察」近畿大学生物理工学部（対象＝中学生）、体験実習～分子生物学の研究室とは 近畿大学生物理工学部（対象＝高校生）、他 14 件

【マスメディア・報道発表】 計 189 件

胡桃坂仁志：朝日新聞；2014 年 1 月 20 日、日経産業新聞；2015 年 11 月 25 日、読売新聞；2017 年 4 月 17 日、朝日新聞；2017 年 5 月 4 日、日本経済新聞；2018 年 1 月 15 日、計 12 件 河野秀俊：J-PARC センター；2015 年 8 月 29 日計 1 件 小布施力史：北海道医療新聞；2014 年 8 月 23 日、計 6 件 木村宏：日経バイオテクオンライン；2014 年 8 月 14 日、化学工業日報；2014 年 12 月 17 日、日経バイオテクオンライン；2015 年 9 月 22 日、日経産業新聞；2015 年 9 月 30 日、計 9 件 山縣一夫：日経新聞；2015 年 7 月 8 日、朝日新聞；2015 年 6 月 12 日、産経新聞；2018 年 1 月 18 日、日本経済新聞；2018 年 2 月 27 日、NHK；2018 年 3 月 18 日、計 17 件 原口徳子：毎日新聞；2015 年 5 月 19 日、朝日新聞；2015 年 5 月 22 日、神戸新聞；2015 年 7 月 10 日、NHK サイエンス ZERO；2015 年 9 月 13 日、日経産業新聞；2015 年 10 月 28 日、化学工業日報；2015 年 11 月 10 日、日刊工業新聞；2015 年 12 月 25 日、日経産業新聞；2016 年 1 月 8 日、毎日新聞；2016 年 7 月 7 日、Google；2016 年 7 月 7 日、計 92 件 徳永万喜洋：日経産業新聞；2018 年 10 月 8 日、日経バイオテク；2018 年 8 月 9 日、科学新聞；2018 年 8 月 11 日 米田悦啓・安原徳子：産経新聞；2018 年 7 月 30 日 他 計 4 件 斉藤典子：熊本日日新聞；2014 年 11 月 12 日、NHK ニュース；2015 年 4 月 30 日、毎日新聞；2015 年 5 月 1 日、計 13 件 加納純子：大阪大学；2018 年 6 月 29 日、文藝春秋；2018 年 2 月 1 日 計 3 件 中山潤一：日本経済新聞 Web；2018 年 8 月 1 日、科学新聞；2018 年 1 月 19 日、計 10 件 上田潤：NHK ニュース 東海 NEWS WEB；2018 年 1 月 28 日、朝日新聞；2018 年 1 月 18 日、計 9 件、 宮本圭：四国新聞；2017 年 4 月 16 日、科学新聞；2017 年 12 月 1 日、週刊東洋経済；2018 年 2 月 3 日、計 10 件

## 7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況（2 ページ以内）

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、総括班研究課題の活動状況も含め、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、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。

当領域は、全体が一体となって研究を進めるため、研究項目はひとつ(A01)とした。

「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組織した(図4)。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。平成28年には、22件の公募研究を採択することで、中間評価で指摘を受けた「シミュレーションや理論科学の強化」を図った。同様に、中間評価で指摘を受けた「国際連携の強化」のために、国際活動支援班に応募し採択された。この予算を活用し、国際会議の開催、海外研究室との間で研究員の相互派遣、若手研究者の国際会議参加、海外研究者への独自技術の講習などを実現し、国際連携の強化に努めた。総括班は、計画・公募研究を支援、適切な助言や内部評価を行うための活動を行い、円滑な運営を実現した。

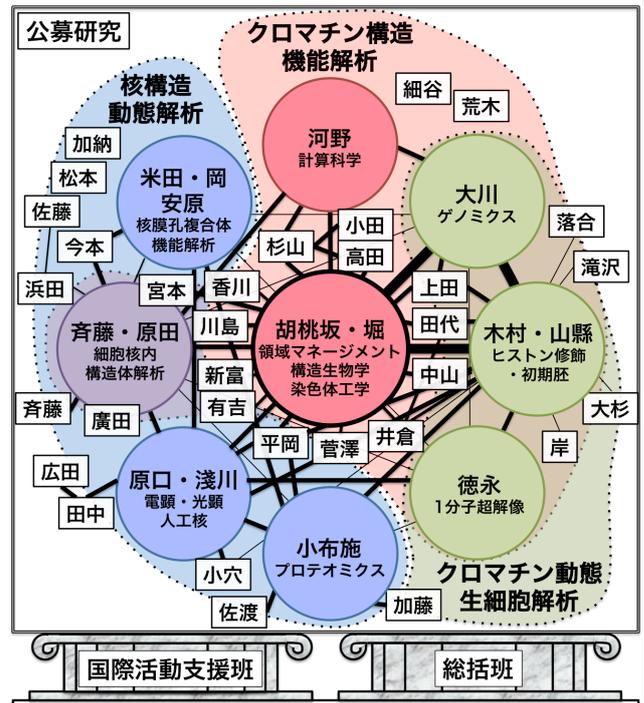


図4 領域内連携状況

### 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、研究体制を整えた。総括班の支援及び助言により、計画研究者らは、そのような有機的な連携を積極的に行った。その結果、領域内共同研究の成果として114報の論文が出された。

#### ●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た。図5は、共同研究・連携の状況を模式的に示したものである。有機的なネットワークを形成し領域研究を推進した。

		計画班								
		胡桃坂	河野	小布施	木村	原口	徳永	米田	斉藤	
計画班	大川	9	1	3	20	進行中	1	1	1	
	斉藤	3	進行中	進行中	1	進行中	1	進行中		
	米田	1	0	3	1	進行中	0			
	徳永	進行中	進行中	進行中	1	1				
	原口	2	進行中	2	3					
	木村	14	進行中	7						
	小布施	2	0							
河野	2									

論文3報以上  
 論文1報以上  
 共同研究進行中

		計画班								
		胡桃坂	河野	小布施	木村	原口	徳永	米田	斉藤	大川
公募班	論文数	31	1	9	14	40	1	1	4	9
	進行中	13	1	3	12	5	0	1	4	3

図5 領域内共同研究の成果

### ●国際共同研究支援活動

H25年の領域発足時から国際学会4件の主催を計画するなど、精力的に国際共同研究ネットワークの形成を支援してきた。H27年度11月に国際共同研究加速基金(国際活動支援班)が発足して以降は一層注力し、以下の支援を展開し、これまでにのべ43件の支援活動を行った。また、本支援によって構築された国際共同研究の多くは現在も継続中であり、今後さらなる研究成果が期待できる。

### ●領域関係者の海外派遣と共同研究

海外にて3件の国際学会(1.“Colorado Chromatin Meeting”(アメリカ、コロラド、H28)、2.“Swiss-Japan Symposium”Chromatin Structure and Dynamics”(スイス、バーゼル、H28)、3.“HMGU-Japan Epigenetics and Chromatin Meeting”(ドイツ、ミュンヘン、H29、図6))を共催し、のべ24名の領域関係者を海外に派遣して最新の情報交換と研究発表、及び共同研究の打ち合わせを行った。この他、領域関係者のべ11名の海外派遣を支援した。

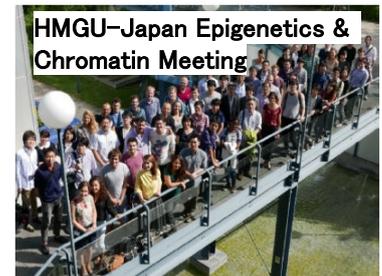


図6 国際学会の開催

### ●国際的な技術指導

本領域関係者の開発した 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、ヌクレオソーム試験管内再構成法は、研究にブレークスルーを起こす重要技術として海外からも注目されている。これらの技術指導の実施のために、シカゴ大学の Turkewitz 教授、Sparvoli 氏(大学院生)を原口研究室に、エジンバラ大学 Ruppert 氏を木村研究室に、シカゴ大学の Shim 氏を胡桃坂研究室に招いて技術指導を実施し、これらの共同研究から既に4報の学術論文(Kaur et al, *Mol Biol Cell*, 2017; Sparvoli et al, *Curr Biol*, 2018; Ruppert et al, *EMBO J*, 2018; Parry et al, *Nat Commun*, 2018)を報告した。

### ●領域内の若手研究者の海外派遣

若手研究者の国際交流および研究技術習得のために、海外での実験活動4件、国際学会、共同研究打ち合わせへの参加、計24件を支援した。

### ●海外からの共同研究者の招聘

海外研究者の日本での研究発表の機会を設けるため、エジンバラ大学 Earnshaw 教授など、9名の海外研究者の日本への来訪、もしくはセミナー開催を支援した。

### ●研究支援活動

領域内研究の活性化のために、以下の研究支援活動を行った。

### ●再構成クロマチン研究拠点

胡桃坂の研究室で作製された、多様なヒストンバリエーションや修飾ヒストン等、及びそれらから再構成されたクロマチンを、領域内の15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た。

### ●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(毎年1週間x5年)、木村、徳永、山縣と共に、若手研究者に技術指導を行った。その教科書となる「新・生細胞蛍光イメージング」(原口ら、編著、共立出版、2015)を出版し(図7、左)、若手育成および研究支援を行った。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た。

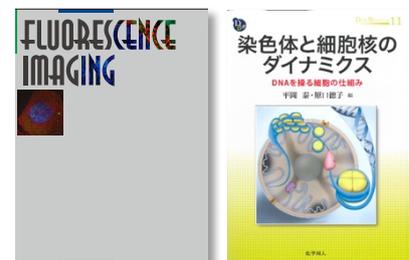


図7 解説書の出版

### ●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た。

### ●解説書の出版

また、専門家はもちろん大学院生などの若手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7、右)。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た。

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

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記述してください（総括班における設備共用等への取組の状況を含む。）。

### 総括班による研究情報の共有・発信

領域内で研究情報を共有し、領域外の研究者に向けて発信するため、総括班の研究経費を以下のように活用した。

25 年度: 領域ホームページ開設 (220 千円)、研究会・ワークショップ共催 (2 件、787 千円)、班会議 (7 千円)

26 年度: 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)、班会議 (717 千円)

27 年度: 国際会議の開催 (2 件、1,017 千円)、研究会・ワークショップ共催 (4 件、1,522 千円)、学会共催 (1 件、271 千円)、班会議 (1,394 千円)

28 年度: 国際会議共催 (100 千円)、研究会・ワークショップ共催 (2 件、1,060 千円)、班会議 (1,379 千円)

29 年度: 国際会議の開催 (79 千円)、研究会・ワークショップ共催 (5 件、1,246 千円)、学会共催 (254 千円)、班会議 (1,503 千円)

さらに、若手研究者の育成のため、若手の会を開催した(他領域との合同開催を含め 5 回、1,394 千円)。また、一般公開シンポジウムを開催し、研究成果を広く公表した(4 回、1,347 千円)。

### 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)、平成 29 年度に高解像度ゲル撮影装置(GE ヘルスケア社、10,962 千円)を設置した。これらの機器は、ヒストンバリエーションや翻訳後修飾等を含む多様な再構成クロマチンの解析と結晶化のため恒常的に使用され、胡桃坂が中心となり形成した再構成クロマチン研究拠点での研究推進に必須の役割を果たした。本拠点にて調製したサンプル及び、確立した技術は、本領域内外の研究チームに提供した。本領域研究期間内に行なったサンプルの提供は共同研究先を含む 24 研究室、146 件にのぼり、多くの成果に貢献した。

### 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)、情報通信研究所に EMCCD カメラ(Andor iXon Ultra897、4,599 千円)を設置した。これらの機器は、木村、米田、原口が中心となり形成したイメージング・画像解析拠点にて、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) による核内タンパク質の動態解析に活用した。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)は 1 分子解析に活用した。また、これらの顕微鏡装置は、支援グループ同士の共同研究や胡桃坂、大川、原田ら領域内の研究者との共同研究にも使用された。

### 計画研究の推進

平成 27 年度の間報後追加配分を受けた研究費の代表的な用途を以下に挙げる。

大川: シーケンス解析試薬(イルミナ社、4,517 千円)を購入し、次世代シーケンサーを用いた網羅的解析の支援として利用した。得られた成果は、領域内における 15 報の国際査読論文として発表した。

原口: タンパク質定量用マイクロプレートリーダー(BioRad 社、810 千円)を購入し、核膜と相互作用する因子を網羅的に解析し、領域内の共同研究として 3 報の国際査読論文を発表した。

上記の他、各計画研究の推進に必要な設備として設置した設備のうち、代表的なものは以下の通りである。

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)、

斎藤: 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)、大川: セルソーター(ソニー社、14,999 千円)、小布施: 共焦点顕微鏡システム(ニコン社、2,018 千円)、胡桃坂: デコンボリューション顕微鏡(GE ヘルスケア社、9,597 千円)

全ての設備は、その使用を領域内に解放し、設置や稼働の状況を領域内で共有した。また、研究支援者を雇用することにより装置を最大限に活用し、研究を推進した。

・研究費の使用状況（（１），（２），（３）を合わせて３ページ以内）

（１）主要な物品明細（計画研究において購入した主要な物品（設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。）について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。）

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価（円）	金額（円）	設置(使用)研究機関
25	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 CSU-W1+Ti-E	1	25,725,000	25,725,000	大阪大学(木村)(平成26年度 東京工業大学へ移設)
	超感度カロリメーター	GE ヘルスケア社 MicroCal iTC200	1	22,890,000	22,890,000	早稲田大学(胡桃坂)
	共焦点レーザー顕微鏡	ライカマイクロシステムズ社 TCS SP8	1	21,997,500	21,997,500	大阪大学(米田、岡、安原)(平成26年度 医薬基盤研へ移設)
	結晶観察装置	フォーミュラトリクス社 Rock Imager 54	1	15,645,000	15,645,000	早稲田大学(胡桃坂)
	並列計算機システム	Xeon 社 E5-2680v2, 64GB memory ノードを13台	1	10,857,000	10,857,000	量子科学技術研究開発機構(河野)
	結晶化ロボット	フォーミュラトリクス社 DropSetter NT8	1	8,400,000	8,400,000	早稲田大学(胡桃坂)
	共焦点スキャナーセット、レーザー光源	ニコン社 LU-N4 LASER UNIT	1	7,455,000	7,455,000	北海道大学(小布施)(平成29年度に大阪大学に移設)
	共焦点スキャナーユニット	ニコンインステック社 Revolution XD-NIT	1	6,553,050	6,553,050	北海道大学(小布施)(平成29年度に大阪大学に移設)
	倒立型リサーチ顕微鏡	オリンパス社 IX73 型	1	4,882,500	4,882,500	熊本大学(斉藤)
	電子増幅デジタル CCD カメラ	Andor 社 DU-897U-CSO-#VB	1	4,599,000	4,599,000	情報通信研究機構(原口)
	2 波長レーザーコンバイナー	ニコンインステック社 488nm/561nm	1	4,200,000	4,200,000	北海道大学(小布施)(平成29年度に大阪大学に移設)
	リアルタイム PCR システム	ライフテクノロジー社 StepOnePlus	1	4,179,000	4,179,000	熊本大学(斉藤)(平成29年度にがん研究所に移設)
26	並列計算機システム	Xeon 社 E5-2680v2, 64GB memory ノードを5台	1	4,499,280	4,499,280	量子科学技術研究開発機構(河野)
27	デコンボリューション顕微鏡	GE ヘルスケア社 DeltaVision Elite 一式	1	9,597,200	9,597,200	早稲田大学(胡桃坂)
	倒立型リサーチ顕微鏡	オリンパス社 IX73	1	3,537,648	3,537,648	近畿大学(山縣)
29	スキャナータイプ画像解析装置	GE ヘルスケア 社 Amersham Typhoon scanner RGB システム	1	10,962,000	10,962,000	早稲田大学(胡桃坂)

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成25年度】

・旅費

1. Mechanisms of Nuclear Transport Conference (アメリカ、ウッズホール) に参加 (神戸⇄ウッズホールの交通費、宿泊費など) 519,852 円、原口
2. 若手の会 第1回シンポジウム (早稲田大学、先端生命医科学センター) の招聘旅費、(招聘者13名分の交通費) 430,580 円、総括班

・人件費・謝金

1. ポスドクの雇用 11,526,952 円 (計2.1人相当)、木村(0.7人相当)、原口(0.5人相当)、米田(0.7人相当)、大川(0.3人相当)
2. 技術員の雇用 4,752,096 円 (計2.2人相当)、小布施(1.3人相当)、原口(0.5人相当)、大川(0.4人相当)
3. 事務支援者の雇用 894,243 円 (計1.2人相当)、胡桃坂(0.6人相当)、徳永(0.6人相当)

・その他

1. 箱根湯本温泉ホテルおかだ コンベンションホール富士の間、末広の間 会場利用料 (第31回染色体ワークショップ/第12回核ダイナミクス研究会開催費用として) 500,000 円、総括班
2. 千里ライフサイエンスセンター 会場利用料 (第1回一般公開シンポジウム開催費用として) 373,275 円、総括班

【平成26年度】

・旅費

1. 第2回班会議 (北海道、十勝サホロリゾート) に参加、(参加者8名分の交通費および宿泊費) 618,626 円、総括班
2. 若手の会 第1回シンポジウム (早稲田大学、先端生命医科学センター) の招聘旅費、(招聘者13名分の交通費) 430,580 円、総括班
3. Axel Imhof 博士の招聘 (ドイツ⇄東京の交通費および、宿泊費) 356,530 円、総括班

・人件費・謝金

1. ポスドクの雇用 29,467,393 円 (計6.1人相当)、胡桃坂(1.6人相当)、木村(1人相当)、原口(1人相当)、米田(1人相当)、斉藤(0.5人相当)、大川(1人相当)
2. 技術員の雇用 8,069,928 円 (計4.7人相当)、小布施(2.7人相当)、木村(0.5人相当)、原口(0.6人相当)、大川(0.9人相当)
3. 事務支援者の雇用 2,617,720 円 (計2.8人相当)、胡桃坂(1人相当)、小布施(0.3人相当)、木村(0.6人相当)、徳永(1人相当)

・その他

1. ルスツリゾート会議室、備品使用料など (第2回領域班会議+若手の会シンポジウム開催費用として) 717,120 円、総括班
2. 御殿場高原ホテル時の栖 会議室利用料 (The 9th 3R Symposium "Together with National Institute of Genomics 2014 International Symposium"開催費用として) 450,000 円、総括班
3. 千里ライフサイエンスセンター 会議室、会場備品使用料 (第2回一般公開シンポジウム開催費用として) 345,600 円、総括班

【平成27年度】

・旅費

1. International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics, and Function (淡路島・淡路夢舞台) への参加および招聘、(参加者24名分の交通費および宿泊費など) 5,589,540 円、総括、河野、小布施、木村、山縣、原口、米田、斉藤、原田、大川
2. 第3回班会議 (北海道、ルスツリゾート) に参加、(参加者11名分の交通費および宿泊費など) 758,090 円、総括班
3. ケンブリッジ大学でのセミナー (イギリス、ケンブリッジ) に参加、(参加者2名分のケンブリッジ大学までの交通費、宿泊費など) 698,578 円、国際活動支援班
4. 第33回染色体ワークショップ/第14回核ダイナミクス研究会 (広島・松島一の坊) に参加、(交通費、宿泊費など) 463,530 円、総括班
5. Aaron Turkewitz 博士に原口研 (兵庫、情報通信研究機構) にて実験技術提供、(神戸⇄シカゴの交通費、宿泊費など) 454,552 円、国際活動支援班

・人件費・謝金

1. ポスドクの雇用 35,814,719 円 (計8.7人相当)、胡桃坂(1人相当)、大川(1人相当)、原口(0.5人相当)、河野(0.8人相当)、米田(2人相当)、斉藤(0.4人相当)、木村(2.9人相当)
2. 技術員の雇用 20,659,501 円 (計10.3人相当)、胡桃坂(1人相当)、原口(1人相当)、米田(0.6人相当)、小布施(4.3人相当)、斉藤(1人相当)木村(1人相当)
3. 事務支援者の雇用 3,501,803 円 (計2.3人相当)、胡桃坂(0.1人相当)、小布施(0.2人相当)、徳永(1人相当)、米田(1人相当)

・その他

1. ルスツリゾート 会議室、備品使用料など (第3回領域班会議開催費用として) 653,600 円、総括班
2. 一橋講堂 会議室利用料 (第9回日本エピジェネティクス研究会年会開催費用として) 345,600 円、総括班

【平成28年度】

・旅費

1. Japan-Swiss Symposium Chromatin Structure and Dynamics (スイス、バーゼル) に参加 (参加者7名のバーゼルへの往復交通費および宿泊費など) 1,969,172円、国際活動支援班
2. Colorad Chromatin Meeting (アメリカ、コロラド) に参加 (参加者4名のコロラドへの往復交通費および宿泊費) 1,739,823円、国際活動支援班
3. 第4回班会議 (北海道、ルスツリゾート) への参加および招聘、(参加者10名分の交通費および宿泊費) 724,950円、総括班
4. 第4回ヒストンバリエーションミーティング (仙台、東北大学) への参加および招聘、(参加者12名分の交通費および宿泊費) 572,687円、総括班
5. Workshop on the molecular and physical biology of chromosomes (アメリカ、ウッズホール) に参加 (参加者1名の、神戸⇄ウッズホールの交通費、宿泊費など) 455,880円、国際活動支援班
6. ウィーン分子病理学研究所 (vienna biocenter, オーストリア、ウィーン) でのセミナーおよび研究打ち合わせ (参加者2名分の東京⇄ウィーン間の交通費、宿泊費など) 327,692円、国際活動支援班

・人件費・謝金

1. ポスドクの雇用 22,582,021円 (計4.8人相当) 胡桃坂(0.4人相当)、原口(0.5人相当)、河野(1人相当)、米田(1.2人相当)、木村(1.7人相当)
2. 技術員の雇用 19,068,013円 (計6.6人相当) 胡桃坂(1人相当)、大川(1.25人相当)、原口(1人相当)、米田(0.4人相当)、小布施(2.1人相当)、斉藤(0.7人相当)、徳永(0.2人相当)
3. 事務支援者の雇用 3,723,286円 (計3人相当) 米田(1人相当)、徳永(1人相当)、木村(1人相当)

・その他

1. ルスツリゾート会議室、備品使用料など (第4回領域班会議開催費用として) 653,600円、総括班
2. かずさアカデミアパーク会場備品使用料など (第34回染色体ワークショップ/第15回核ダイナミクス研究会開催費用として) 398,550円、総括班

【平成29年度】

・旅費

1. Meeting Japan-Helmholtz in Munich (ドイツ、ミュンヘン) に参加 (24名分の交通費および宿泊費など) 8,632,497円、国際活動支援班
2. アメリカ国立衛生研究所 (アメリカ、ワシントン) でのミーティング (3名分の交通費および宿泊費など) 1,197,500円、国際活動支援班
3. 第5回班会議 (北海道、ルスツリゾート) への参加および招聘 (参加者10名分の交通費および宿泊費など) 834,040円、総括班
4. 9th International Fission Yeast Meeting (5/13-21、カナダ、バンフ) に参加 (参加者2名分の神戸⇄バンフの交通費、宿泊費など) 732,376円、原口
5. 3領域合同若手勉強会 (和歌山、紀州・白浜温泉 むさし) 665,240円、(参加者22名分の交通費、宿泊費など) 総括班
6. Aaron Turkewitz 博士、Daniela Sparvoli 氏に原口研 (兵庫、情報通信研究機構) にて実験技術提供、(2名分の神戸⇄シカゴの交通費、宿泊費など) 606,620円、国際活動支援班
7. 若手研究者のケンブリッジ大学 (イギリス、ケンブリッジ) での実験 (熊本⇄ケンブリッジの交通費、宿泊費など) 458,658円、国際活動支援班
8. Pleiotropic nuclear envelope meeting (イギリス、エジンバラ) に参加 (参加者2名分の神戸⇄エジンバラの交通費、宿泊費など) 399,712円、原口+国際活動支援班
9. EMBO CONFERENCE (ドイツ、ハイデルベルグ) に参加 (横浜⇄ハイデルベルグの交通費、宿泊費など) 353,325円、木村
10. コールドスプリングハーバー研究所 (アメリカ、ニューヨーク) にて共同研究 (熊本⇄ニューヨークの交通費、宿泊費など) 316,722円、国際活動支援班

・人件費・謝金

1. ポスドクの雇用 24,127,958円 (計6.8人相当)、胡桃坂(0.9人相当)、河野(1人相当)、木村(2.3人相当)、小布施(1人相当)、原田(1.5人相当)
2. 技術員の雇用 22,621,429円 (計9.1人相当)、小布施(1人相当)、原口(1.5人相当)、斉藤(1.3人相当)、原田(1.5人相当)、徳永(1.8人相当)、米田(1.1人相当)、大川(1.3人相当)
3. 事務支援者の雇用 3,671,213円 (計3.7人相当) 大川(1.7人相当)、徳永(1人相当)、木村(1人相当)

・その他

1. ルスツリゾート会議室、備品使用料など (第5回領域班会議開催費用として) 653,600円、総括班
2. 一橋講堂 会議室利用料 (第11回日本エピジェネティクス研究会年会開催費用として) 301,716円、総括班

(3) 最終年度 (平成29年度) の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

該当なし

## 9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1 ページ以内）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

### 【発生・再生分野への貢献】

発生や再生の過程では、ヒストン修飾がダイナミックに変化することが高次の生命活動に必須であると考えられている。木村は、発生や再生過程のヒストン修飾状態の変化を、生きた胚、個体で可視化するための蛍光プローブとして“Mintbody”を開発した(Sato et al, *Sci Rep*, 2013)。これは、抗体可変領域を蛍光タンパク質と融合して発現させる遺伝子コード型のプローブであり、これを発現させることで、胚発生過程を生きた個体で長期間観察することが可能になった(Sato et al, *J Mol Biol*, 2016; Arai et al, *Sci Rep*, 2017; Kurita et al, *Sci Rep*, 2017 等)。さらに、大川と共同で、少数および単一細胞で特定のクロマチン領域のエピゲノム状態を解析できる実験手法(ChILT)を確立した(論文修正中)。これらの技術開発は、発生や再生分野に大きな進展をもたらすものである。また、山縣は、約4日間という長時間ライブセルイメージングを可能にする蛍光顕微鏡システムを構築していた(観察した胚は子宮に戻すと正常な仔が生まれることが確認されている)。このシステムを更に改良し、染色体動態を分刻みで克明に観察できるイメージング技術開発に成功した(Yao et al, *J Mam Ova Res*, 2016)。この技術は、基礎生物学の分野やもちろんのこと、ヒト胚発生過程を観察することも可能となるため、不妊症の治療に役立つ成果である。

### 【がん研究分野への貢献】

染色体異常ががんにつながるということが知られている。胡桃坂は、本来はセントロメアに局在する CENP-A が、悪性度の高いがん細胞では、染色体腕部に CENP-A/H3.3 ハイブリッドヌクレオソームとして存在することを発見し(Lacoste et al, *Mol Cell*, 2014)、その構造解析にも成功した(Arimura et al, *Sci Rep*, 2014)。この成果は、今後、がんにおける染色体の分裂異常を説明するものとして注目されている。また、田中と広田は、がん細胞の分裂期染色体分配の仕組みを解析し、染色体動原体と微小管との結合状態が染色体の安定性に大きく寄与し、がんの発生と大きく関連することを見いだした(Tanaka & Hirota, *Biochem Biophys Acta*, 2016)。また、斉藤は、再発乳がん細胞では、特定のゲノム領域から大量の RNA が転写されエレノアクラウドと呼ばれる核内構造を形成することを発見した(Tomita et al, *Nat Commun*, 2017)。今後、再発乳がんの薬剤ターゲットとして、エレノアクラウド構造の形成・維持機構の解明が大きく注目されている。

### 【エピゲノム創薬への貢献】

がんや糖尿病、アルツハイマー病を治療するための新たな創薬として、血液がんや固形がんをターゲットとするエピゲノム創薬が世界的に注目され、国内外で、すでに多数の臨床試験が進行している。胡桃坂が決定した、様々なヒストンバリエントおよびヒストン修飾をもつ多様なヌクレオソーム構造は、これらのエピゲノム創薬を支える基盤情報となるものであり、当該分野に大きなインパクトを与えた。さらに、胡桃坂は、創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業(AMED)に対して、高純度に精製した様々なヌクレオソーム(ヒストンバリエントや任意の修飾をもつヌクレオソーム)を多数提供しており、創薬に対して大きな貢献をした。木村は、従来品と比較して数千倍という極めて特異性の高いヒストン修飾抗体を多数作製し(Kimura et al, *Cell Struct Funct*, 2008, 論文賞受賞)、生きた細胞、胚、個体でヒストン修飾を可視化する方法(FabLEM 法, Mintbody 法)を開発した。この成果は、世界のエピゲノム研究に大きなインパクトを与えた(2015 年、Robert Feulgen Prize 受賞)。最近では、ヒストン抗体を中心に、世界的にエピゲノム抗体の「標準化」が行われており、木村は、そのプロジェクトの日本側担当者の一人であり、エピゲノム研究分野および創薬分野に大きな貢献をした。

### 【遺伝子デリバリー分野への貢献】

非ウイルスベクターを使った遺伝子導入は、ES 細胞や iPS 細胞では低いことが、遺伝子治療の分野で問題になっていた。原口は平岡と共同し、DNA ビーズを細胞内に導入する新たな実験系を構築し、外来 DNA が侵入した際の細胞内応答を明らかにした(Kobayashi et al, *PNAS*, 2015)。さらに p62 を除去すると、外来 DNA の遺伝子導入効率が有意に上昇することも発見した(Tsuchiya et al, *FEBS Lett*, 2016)。この成果は、これまで理解されていなかった外来 DNA の細胞内動態と細胞応答の解明に繋がり、遺伝子デリバリー分野に大きな進展をもたらすものとして注目されている。

## 10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1ページ以内）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者（※）の研究終了後の動向等を記述してください。

※研究代表者・研究分担者・連携研究者・研究協力者として参画した若手研究者を指します。

本領域では、若手研究者が組織した「若手の会」の活動を支援することにより、若手研究者の育成に努めた。例えば、海外で活躍する若手研究者の講演会や、海外ポスドクとしての研究活動をその後の研究キャリアに活かした経験を紹介する講演会（キャリアパス講演会）を開催し、若手研究者を刺激すると共にキャリアパスを考える契機とした。また国際活動支援班により、若手研究者の国際学会での報告や海外研究室での研究活動を支援した。さらに、蛍光顕微鏡実機講習会（細胞生物学ワークショップ、5回）やエピゲノム解析技術講習会（ChIP-Seq講習会）の開催などにより、若手研究者の技術向上と研究交流を促進した。これらの活動により、本領域に参加した若手研究者の成長が促された。

本領域に参画した若手研究者の動向および受賞を以下にリストした。

### 【計画研究代表者の昇任】

- ・木村 宏:平成 26 年、大阪大学生命機能研究科・准教授から東京工業大学生命理工研究科・教授に。さらに、平成 28 年、科学技術創成研究院・教授に異動。
- ・大川恭行:平成 27 年、九州大学医学研究科・准教授から九州大学生体防御医学研究所・教授に。
- ・斉藤典子:平成 29 年、熊本大学発生医学研究所・准教授から公益財団法人がん研究会・がん研究所・部長に。

### 【計画研究分担者の昇任】

- ・浅川東彦:平成 26 年、大阪大学生命機能研究科・助教から同・准教授に。
- ・山縣一夫:平成 27 年、大阪大学研究科・(任期付き)特任准教授から近畿大学の定年制の准教授に。
- ・堀 哲也:平成 27 年、国立遺伝学研究所・助教から大阪大学生命機能研究科・准教授に。
- ・安原徳子:平成 28 年、医薬基盤・健康・栄養研究所・特任研究員から日本大学文理学部・准教授に。
- ・上田 潤:平成 29 年、中部大学実験動物教育研究センター・助教から旭川医科大学医学部・准教授に。
- ・岸 雄介:平成 29 年、東京大学大学院薬学系研究科・助教から同・講師に。
- ・浜田道昭:平成 30 年、早稲田大学理工学術院・准教授から同・教授に。
- ・佐藤政充:平成 30 年、早稲田大学理工学術院・准教授から同・教授に。
- ・新富圭史:平成 30 年、理化学研究所・研究員から同・専任研究員に。

### 【その他、若手研究者の動向】

領域に関与した若手研究者のうち、23 名が常勤の研究職に、また 32 名が非常勤の研究職に就いている。また、日本学術振興会特別研究員(通称、学振)にのべ 34 名が採択された。

### 【受賞】

- ・木村 宏(計画研究代表者):平成 27 年、Robert Feulgen Prize 受賞(欧州の The Society of Histochemistry が贈る賞)
- ・加納純子(公募研究代表者):平成 28 年度 日本遺伝学会奨励賞受賞
- ・浜田道昭(公募研究代表者):平成 29 年度 文部科学大臣表彰若手研究者賞(科学技術分野)受賞
- ・宮本 圭(公募研究代表者):平成 30 年度 文部科学大臣表彰若手研究者賞(科学技術分野)受賞

## 11. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

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。

### 内部評価委員

米田 悦啓 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・所長（専門：細胞生物学、生化学）

### 外部評価委員

柴田 武彦 理化学研究所・名誉研究員（専門：生化学・遺伝学・細胞生物学）

森川 耿右 国際高等研究所・元チーフリサーチフェロー（専門：構造生物学）

笹井 理生 名古屋大学・教授（専門：生物物理学）

西村 善文 横浜市立大学・特任教授学長補佐（専門：構造生物学・分子生物学）

木村 暁 国立遺伝学研究所・教授（専門：システム生物学・分子生物学）

### 米田悦啓氏

本新学術領域は、領域代表のリーダーシップの下、各班員の意見が尊重された形で研究体制が整えられ、常に自由闊達な意見交換が行われたことが大きな特徴であり、総括班、国際活動支援班を中心とした活動が活発であったことが評価できる。若手支援として開催した若手ワークショップやシンポジウムや、若手研究者の海外研究室や研究集会などへの派遣を例として挙げることができる。また、本領域で開発された技術を海外研究者に紹介・提供する活動を積極的に展開した国際活動支援班の活動もユニークであり、評価できる。また研究面では、計画研究と公募研究との連携も含め、領域内の共同研究が活発に展開された。その結果として 114 報の領域内共同研究の論文が公表された。その中でも、領域代表によって開発された多様なヌクレオソームやポリヌクレオソームを再構成する技術と領域内共同研究が結びつくことにより、セントロメアやヘテロクロマチンの機能の基盤となる動的クロマチン構造の基盤が明らかになったことは特筆される。

### 柴田武彦氏

本領域の活動は、非常に活発であったと評価できる。研究体制面では、総括班活動の国際交流活動が印象的である。活発な国際ミーティングの開催や、研究者派遣・招聘はもちろんであるが、領域内での研究技法やテクニックを海外へ紹介したり技術指導した活動は、他では聞いたことがあまりなく、この領域の大きな特徴であり、大きな成果といえる。研究面では、構成的に要素を積み上げていく研究や、あらたな解析・測定手法の開発的な実験を行った研究などが、印象的であった。このような新しいアプローチを領域全体で共有して研究を展開させ、また領域内共同研究を展開させることが、新学術領域研究の重要性の 1 つであり、その基盤ができたのではないかと評価している。また、新学術領域研究としては、若手研究者の養成も重要であるが、本領域では領域会議で若手がトークやポスターで発表・討論する場を充実させており、若手が学ぶことが多かったと感じた。また、若手のポスター発表では、新たな解析システムを構築したという内容も多々見られたので、そのようなシステムを活用した今後の研究にも期待する。また、本領域の研究活動のまとめ方については、最初の提案がどこまで達成できたか、という観点のみにこだわる必要はないのではないかと考える。研究は次に何が起こるのかは予測できず、それが大きな評価を得る独創的な成果につながる。したがって、予想された範囲内で何が達成されたかだけにこだわらず、今後の展開を拓くどのような成果が生まれたかについて、おおいにアピールすればよいだろう。

### 森川耿右氏

ユークロマチンとヘテロクロマチンの変換などの課題において、全般的に着実な進歩が感じられる。構造生物学の観点からは、特定の DNA 配列に固執することなく、多様な DNA 配列とヒストンの結合にも研究の視野を拡張し、様々な技術を駆使して解析する方向性が見えてきたことを高く評価したい。従来のクロマチン研究では、転写に関連した分野と比較して、DNA 損傷修復とヒストンタンパク質との関連性を指摘した報告は少なかったが、本領域の研究にはその関連性を強く示唆するものがあり、今後の展開に興味をもたれる。領域会議の活発な論議や、領域内共同研究の進展から、各領域メンバーが緊密なコミュニケーションで繋がっていることを実感しており、各研究班の間の緊密な連携プレイ

が、この領域の高い実績つながっていると考えられる。一方、細胞核内におけるクロマチンの階層的構造変換に関しては、空間的に遠距離にあるクロマチン部分間の相互作用、長時間をかけて生じるクロマチンの動的構造変換を説明するためには、細胞核内の構造未知の分子にも、今後注目する必要があると思われる。

#### 笹井理生氏

領域会議での発表・討論が活発であったことが、特に印象に残っている。これは研究テーマに大きな発展性、生命力があることを反映しているためであろう。本領域の研究体制としては、公募研究の採択によって理論研究が充実し、これが本領域の進展に大いに貢献したと評価している。本領域で扱われているインフォマティクスとシミュレーションの両方のタイプの理論研究が、今後クロマチン研究にとってさらに重要性を増すと予想されるので、本領域の成果の広報などを通じて、関連領域の若手研究者・学生に刺激を与えて欲しいと思う。今後、核内のクロマチンドメインやトポロジカルドメインなどが、ヌクレオソームレベルから生命機能への繋がりを考える上で重要になる可能性がある。この問題については、国際的にも活発に議論されており、今後はこのような問題も合わせて取り扱う必要があると考える。

#### 西村善文氏

研究体制としては、本領域の総括班活動が活発であることが印象的である。国内のシンポジウム開催、若手の会の開催などに加えて、国際会議開催や研究者の国際交流などの国際活動を活発に行った。領域代表を中心として、本領域がこのような総括班活動を重要視して実現したことは、大きな特徴であり成果である。また領域会議においても、質疑応答が盛んであり、領域の研究について活発に議論されているのが印象的であった。本領域の研究面については、領域の立ち上げの際に比べ、大きな進展があったことは評価できる。進展した研究としては、ヘテロクロマチンや、オーバーラッピングジヌクレオソームの研究が含まれる。このような研究の進展には、領域代表のリーダーシップや領域内共同研究が大きく貢献していると考えられる。この研究の流れを今後さらに維持・発展していくための方策を検討する必要がある。本領域は「動的クロマチン構造」をタイトルとして掲げているが、「動的」な成果に加えて「スタティック」な取り組みにおいても多くの重要な成果が生まれている。これら両面の成果が得られたことが、本領域の重要な特徴であるといえる。

#### 木村暁氏

本領域の総括班活動が非常に活発であり、上手く機能していると判断される。このような総括班活動の進め方や内容を、何かの方法で発表・公開することを検討して欲しい。これは、若手の研究者が新しい新学術領域を立ち上げようとしている場合などに、大いに参考になるのではないかと。また総括班の国際活動も活発であるが、特に、テクニク伝授などで海外の研究グループから評価・感謝されていることは、大きな特徴である。研究面では、この領域の大きな特徴として、まずフラットな関係で活発に議論がされていることが挙げられる。地位とか業績に関わらずフラットに議論をするのはサイエンスのあるべき姿であり、評価できる。また、サイエンスを前に進める領域のスタイルが確立しており、領域という枠組みのメリットを生かして研究が大いに進展し、領域メンバーの国際的なプレゼンスも上がったと思う。次に、共通のテーマがしっかり進んでいるという印象を受けた。研究期間の前半ではヒストンバリエーションが中心的なテーマだったと思うが、これによって世界のバリエーション研究をこの領域が大きく引っ張ったと理解される。後半の大きな潮流として感じたのは、クロマチン再構成である。領域代表による種々の複雑なクロマチン状態の構造解析、計画班による核膜の再構成、公募研究の分裂期染色体の再構成は代表的な例だと思う。このような共通なテーマに、各領域メンバーの研究の進展も加わり、「間期核を再構成できるくらいに理解する」という大きな目標につながっているように感じた。最後に、このような活発な領域運営が可能であったのは、これまで関連分野において若い世代(領域代表を含め)が育ってきたからであり、本領域においてもさらに続く世代が育成できたのではないかと考える。我々の世代に加え、この若い世代が今後も関連領域を盛り上げていってくれることを期待している。