

領域略称名：クロマチン潜在能
領域番号：7003

令和5年度科学研究費助成事業
「新学術領域研究（研究領域提案型）」
に係る研究成果報告書（研究領域）兼
事後評価報告書

「遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル」

領域設定期間

平成30年度～令和4年度

令和5年6月

領域代表者 東京工業大学・科学技術創成研究院・教授・木村 宏

目 次

研究組織

- | | | |
|---|----------------|---|
| 1 | 総括班・総括班以外の計画研究 | 2 |
| 2 | 公募研究 | 3 |

研究領域全体に係る事項

- | | | |
|----|-----------------------------------|----|
| 3 | 交付決定額 | 7 |
| 4 | 研究領域の目的及び概要 | 8 |
| 5 | 審査結果の所見及び中間評価結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況 | 10 |
| 6 | 研究目的の達成度及び主な成果 | 12 |
| 7 | 研究発表の状況 | 17 |
| 8 | 研究組織の連携体制 | 22 |
| 9 | 研究費の使用状況 | 23 |
| 10 | 当該学問分野及び関連学問分野への貢献の状況 | 24 |
| 11 | 若手研究者の育成に関する取組実績 | 25 |
| 12 | 総括班評価者による評価 | 26 |

【以下、非公開部分】

- | | | |
|----|-------|----|
| 13 | 参考データ | 28 |
|----|-------|----|

研究組織

(令和5年3月末現在。ただし完了した研究課題は完了時現在、補助事業廃止の研究課題は廃止時現在。)

1 総括班・総括班以外の計画研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
X00 総	18H05526 遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル	平成30年度 ～ 令和4年度	木村 宏	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授	1
A01 計	18H05527 細胞核・クロマチン構造のダイナミクスと遺伝子制御	平成30年度 ～ 令和4年度	木村 宏	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授	3
A01 計	18H05528 再構成とエピゲノム編集による初期胚核の機能性獲得機序の理解	平成30年度 ～ 令和4年度	山縣 一夫	近畿大学・生物理工学部・教授	2
A01 計	18H05529 物理計測と理論モデル構築によるクロマチンポテンシャルの理解	平成30年度 ～ 令和4年度	木村 暁	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授	2
A01 計	18H05530 細胞分化にともなうクロマチンポテンシャルの変化とその分子基盤	平成30年度 ～ 令和4年度	眞貝 洋一	理化学研究所・眞貝細胞記憶研究室・主任研究員	2
A01 計	18H05531 核内 RNA ボディによるクロマチン制御機構の解明	平成30年度 ～ 令和4年度	斉藤 典子	がん研究会・がん研究所がん生物部・部長	2
A01 計	18H05532 ヘテロクロマチン構造形成の分子機構	平成30年度 ～ 令和4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	2
A01 計	18H05533 減数分裂における細胞核・クロマチン構造の変換メカニズム	平成30年度 ～ 令和4年度	平岡 泰	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A01 計	18H05534 ヌクレオソーム高次構造とダイナミクスの解析によるクロマチン潜在能の解明	平成30年度 ～ 令和4年度	胡桃坂 仁志	東京大学・定量生命科学研究所・教授	3
総括班・総括班以外の計画研究 計 9 件 (廃止を含む)					

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

2 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01 公	19H05250 核内 RNP 相分離構造体によるゲノム制御	令和元年度 ～ 令和2年度	山崎 智弘	大阪大学・生命機能研究科・特任講師	1
A01 公	19H05253 生体内ニューロン分化過程におけるクロマチンポテンシャルの解析	令和元年度 ～ 令和2年度	岸 雄介	東京大学大学院・薬学系研究科・講師	1
A01 公	19H05254(廃止) シングルセル解析によるヒト精子エピゲノムプロファイル多様性の検討	令和元年度 ～ 令和2年度	岡田 由紀	東京大学・定量生命科学研究所・教授	1
A01 公	19H05255 クライオ蛍光顕微鏡による細胞核内構造の超微細イメージング	令和元年度 ～ 令和2年度	藤芳 暁	東京工業大学・理学院・助教	1
A01 公	19H05256 嗅覚受容体と β グロビン、2つの遺伝子クラスターが織りなすクロマチンポテンシャル	令和元年度 ～ 令和2年度	廣田 順二	東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター・准教授	1
A01 公	19H05257 クロマチン動態の実時空間イメージング	令和元年度 ～ 令和2年度	柴田 幹大	金沢大学・ナノ生命科学研究所・准教授	1
A01 公	19H05258 相分離による分子液滴クラスター形成とクロマチン相互作用	令和元年度 ～ 令和2年度	笹井 理生	名古屋大学・大学院工学系研究科・教授	1
A01 公	19H05259 ヒストン修飾のダイナミクスが誘起するクロマチンブラシの相分離と転写ダイナミクス	令和元年度 ～ 令和2年度	山本 哲也	北海道大学・化学反応創成研究拠点・特任准教授	1
A01 公	19H05260 DNAカーテン測定によるヒストン化学修飾がクロマチン凝集に与える影響の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	寺川 剛	京都大学・理学研究科・助教	1
A01 公	19H05261 Role of DNA topology in gene expression	令和元年度 ～ 令和2年度	Canela Andres	京都大学・白眉センター・特定准教授	1
A01 公	19H05262 サブテロメアクロマチンポテンシャルの分子メカニズム	令和元年度 ～ 令和2年度	加納 純子	東京大学大学院・総合文化研究科・教授	1
A01 公	19H05264 ヌクレオソームDNAの部分配列がもつクロマチンポテンシャルの解明	令和元年度 ～ 令和2年度	加藤 太陽	島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教	1

A01 公	19H05265 (廃止) ヒストン変異誘導により明らかに するクロマチン制御の生理学的意 義	令和元年度	石内 崇士	九州大学・生体防御医学研 究所・助教	1
A01 公	19H05266 哺乳類神経幹細胞における細胞記 憶を制御するクロマチンポテンシ ヤルの分子機構の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	今野 大治郎	九州大学・生体防御医学研 究所・准教授	1
A01 公	19H05267 個体老化に伴う肝細胞クロマチン ポテンシャル低下機構の解明と制 御	令和元年度 ～ 令和2年度	鈴木 淳史	九州大学・生体防御医学研 究所・教授	1
A01 公	19H05268 小分子 RNA が制御するクロマチ ンポテンシャルと遺伝子発現	令和元年度 ～ 令和2年度	岩崎 由香	慶應義塾大学・医学部・講師	1
A01 公	19H05269 クロマチンによる外的環境記憶と 老化速度制御機構	令和元年度 ～ 令和2年度	早野 元詞	慶應義塾大学・医学部・特任 講師	1
A01 公	19H05270 テンソル分解を用いた教師無し学 習による変数選択法のヒストン修 飾解析への応用	令和元年度 ～ 令和2年度	田口 善弘	中央大学・理工学部・教授	1
A01 公	19H05271 (廃止) 転写リプログラミングにおけるク ロマチン構造変化の階層的理解	令和元年度	宮本 圭	近畿大学・生物理工学部・講 師	1
A01 公	19H05272(廃止) 植物における遺伝子内ヘテロクロ マチンの制御と機能	令和元年度 ～ 令和2年度	佐瀬 英俊	沖縄科学技術大学院大学・ 植物エピジェネティクスユ ニット・准教授	1
A01 公	19H05273(廃止) 転写装置によるクロマチン動態制 御の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	前島 一博	国立遺伝学研究所・遺伝メ カニズム研究系・教授	1
A01 公	19H05274(廃止) DNA 損傷による幹細胞化を制御 するクロマチンポテンシャルの解 明	令和元年度 ～ 令和2年度	玉田 洋介	宇都宮大学・工学部・准教授	1
A01 公	19H05275 クロマチン構造転移の統計物理学	令和元年度 ～ 令和2年度	川口 喬吾	理化学研究所・開拓研究本 部・理研白眉研究チームリ ーダー	1
A01 公	19H05277 グアニン4重鎖を介して核膜近傍 に形成されるクロマチンドメイン による染色体動態制御	令和元年度 ～ 令和2年度	正井 久雄	東京都医学総合研究所・基 礎医科学研究分野・所長	1

A01 公	19H05278 神経個性を決める潜在的クロマチン変化の意義とその制御機構の解明	令和元年度 ～ 令和2年度	新海 陽一	産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員	1
A01 公	19H05279 長鎖ノンコーディング RNA が制御する個体発生とヘテロクロマチン形成メカニズム	令和元年度 ～ 令和2年度	小林 慎	産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員	1
A01 公	21H00241 ヒストンアセチル化・非コード RNA による転写活性化の物理	令和3年度 ～ 令和4年度	山本 哲也	北海道大学・化学反応創成研究拠点・特任准教授	1
A01 公	21H00242 生体内ニューロン分化における高時間解像度・多階層クロマチンポテンシャルの解析	令和3年度 ～ 令和4年度	岸 雄介	東京大学・定量生命科学研究所・准教授	1
A01 公	21H00243 核内 RNA ボディによるクロマチン制御と熱ストレス応答	令和3年度 ～ 令和4年度	秋光 信佳	東京大学・アイソトープ総合センター・教授	1
A01 公	21H00244 サブテロメアクロマチンポテンシャル	令和3年度 ～ 令和4年度	加納 純子	東京大学大学院・総合文化研究科・教授	1
A01 公	21H00245 原腸形成期における TAD 形成によるクロマチンポテンシャル変化	令和3年度 ～ 令和4年度	中村 遼平	東京大学・理学系・助教	1
A01 公	21H00246 クロマチン構造の核内観察	令和3年度 ～ 令和4年度	藤芳 暁	東京工業大学・理学院・助教	1
A01 公	21H00247 クロマチンリモデリングの実時空間イメージング	令和3年度 ～ 令和4年度	柴田 幹大	金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授	1
A01 公	21H00248 4D ゲノムアーキテクチャと細胞の転写活性	令和3年度 ～ 令和4年度	笹井 理生	名古屋大学・大学院工学系研究科・教授	1
A01 公	21H00250 (廃止) 発生脳における計画的 DNA 切断によるクロマチン保護機構	令和3年度 ～ 令和4年度	見学 美根子	京都大学・高等研究院・教授	1
A01 公	21H00251 栄養環境に応じた個体成長および生殖機能を支えるクロマチン制御機構の解明	令和3年度 ～ 令和4年度	服部 佑佳子	京都大学・生命科学研究科・助教	1
A01 公	21H00252 クロマチンカーテン法によるクロマチン凝集の1分子蛍光顕微鏡観察	令和3年度 ～ 令和4年度	寺川 剛	京都大学・理学研究科・助教	1

A01 公	21H00253 RNA 誘導性相分離によるクロマチン制御	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	山崎 智弘	大阪大学・生命機能研究科・特任講師	1
A01 公	21H00255 転写と関連した非従来型ヌクレオソームの細胞内高解像度マッピング	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	加藤 太陽	島根大学・医学部生化学講座・准教授	1
A01 公	21H00256 核内クロマチン密度と核内構造体の相互関連の検証	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	原 裕貴	山口大学・自然科学研究科・講師	1
A01 公	21H00259 トランスポゾンが形作るヘテロクロマチン領域とゲノム構造	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	岩崎 由香	理化学研究所・生命医科学研究センター・チームリーダー	1
A01 公	21H00261 細胞の目覚めを引き起こす遺伝子制御の基盤となるクロマチンの時間的变化	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	佐藤 政充	早稲田大学・理工学術院・教授	1
A01 公	21H00263 3次元 STED-FCS で明かすクロマチン潜在能を支える核内微小構造の分子動態	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	毛利 一成	情報通信研究機構・未来 ICT 研究所・研究員	1
A01 公	21H00264 グアニン 4 重鎖を介して核膜近傍に形成されるクロマチンドメインによる染色体動態制御	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	正井 久雄	東京都医学総合研究所・基礎医科学研究分野・所長	1
A01 公	21H00265 X染色体不活性化をモデルとしたヘテロクロマチン化維持機構の解明	令和 3 年度 ～ 令和 4 年度	小林 慎	産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員	1
公募研究 計 45 件 (廃止 7 件を含む)					

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

研究領域全体に係る事項

3 交付決定額

年度	合計	直接経費	間接経費
平成 30 年度	51,090,000 円	39,300,000 円	11,790,000 円
令和元年度	46,150,000 円	35,500,000 円	10,650,000 円
令和 2 年度	46,150,000 円	35,500,000 円	10,650,000 円
令和 3 年度	46,150,000 円	35,500,000 円	10,695,000 円
令和 4 年度	46,150,000 円	35,500,000 円	10,695,000 円
合計	235,690,000 円	181,300,000 円	54,390,000 円

4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」であるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

【研究目的】本新学術領域は、生命活動の根源である遺伝子発現に対してクロマチン構造が潜在的にもつ遺伝子発現制御能力を明らかにすることを目的とする。本報告書では、この遺伝子制御能力を「クロマチンポテンシャル」と呼ぶ。

【学術的背景と全体構想】ゲノムDNAからの遺伝子発現は、発生や分化、あるいは「がん」などの疾病や免疫反応など、全ての生命活動を支える根源的な反応といえることができる。例えば、初期発生では、ひとつの細胞から機能の異なる多数の細胞が作り出されていくが、この過程では、それぞれの核で、異なる遺伝子から遺伝子発現が起こり、それが時間と共に変化していく。このような驚くべき遺伝子発現制御がどのような仕組みで行われるのか分かっておらず、生物学上の大きな謎のひとつとして残されている。核内のDNAは、ヒストンタンパク質と結合してヌクレオソームと呼ばれる基本構造単位を形成し、それが連なったクロマチンとして収納されている。クロマチンは、発生や細胞分化の過程で大規模な構造変換を起こし、弛緩したユークロマチン構造と凝縮したヘテロクロマチン構造が顕在化してくる。しかし、そのようなクロマチン構造変換が遺伝子発現(転写)の活性化や抑制に必要なのか、それとも転写状態の変化の結果として起こっているのか、根本的な問題にも関わらず、その仕組みは不明のままである。

本新学術領域代表者(木村宏)は、独自に開発した翻訳後化学修飾に対する特異的抗体を応用し、生細胞内でのヒストン修飾と転写反応を可視化する方法(Fab-based live endogenous modification labeling; FabLEM法)を開発した。さらに、その特異的ヒストン修飾抗体をコードする遺伝子をGFP遺伝子と融合させて発現させるMintbody(Modification-specific intracellular antibody)法を開発し、胚発生過程でのヒストン翻訳後修飾の変化を、生きたままの状態では鮮明な動画像として捉えることに成功した。これらの画期的なイメージング技術を使うことにより、ヒストン修飾などのエピゲノム状態変化の過程が可視化だけでなく、これまで不明であった高次クロマチン構造と遺伝子発現との関係を、生きた細胞や胚、個体で調べることが可能になった(図1)。このエピジェネティックイメージング技術を基軸として、生きた細胞・胚で起こるクロマチン構造や核構造の変化を計測し、さらにそれらの分子基盤を解明したうえで、データに基づいた理論モデル化を行えば、生命のもつダイナミックな遺伝子発現制御の本質を明らかにできるのではないかと着想した。特に、分化過程では、細胞核とクロマチンの構造が大きく変化し、ユークロマチンとヘテロクロマチンがより顕在化してくるため、クロマチン構造と遺伝子発現制御の関係を時空間で捉えつつ、分子レベルで明らかにすることが可能と考えた。本領域は、クロマチン構造がもつ潜在的な遺伝子制御能力(転写されやすさ、され難さ)を「クロマチンポテンシャル」と捉え、蛍光イメージングやエピゲノム編集、オミクス解析、再構成、理論モデリング等、最先端の手法を駆使してその実体を解明するものである。本領域の目的である「クロマチン構造がもつ遺伝子発現制御能力の理解」という命題は、生物学の根源的な問題である。本領域は、このような「古典的」な問題に、最新の科学・技術を用いて挑み、クロマチン構造のもつ様々な潜在能力(ポテンシャル)を「クロマチンポテンシャル」という概念として捉えることにより、遺伝子制御の本質を理解しようとするものである。

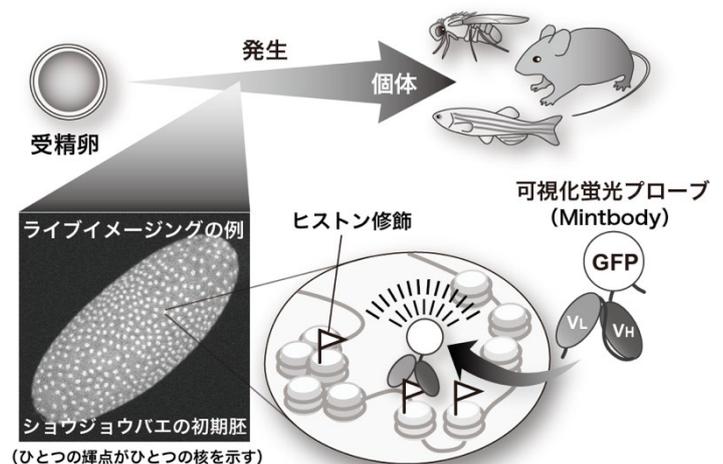


図1: Mintbody 開発によって発生の全過程におけるヒストン修飾の可視化に道がひらかれた

本研究では、ユークロマチンとヘテロクロマチンが顕在化し大規模に遺伝子発現が変化する多様な生命現象から、クロマチン構造のもつ転写を制御する潜在的な能力（クロマチンポテンシャル）を明らかにすることを目的とする（図2）。そのため、マウスやゼブラフィッシュの胚発生、ES細胞の分化、酵母の生殖細胞形成など、様々な生命現象を対象として、クロマチンポテンシャルの実体分子の解明、その制御機構の解明を目指す。さらに、クロマチンや細胞核を再構成することで、その仮説を検証する。具体的には、以下の3項目について研究を行う。

1. ユークロマチンとヘテロクロマチンの顕在化に伴うクロマチンポテンシャル変化の分子機構：分子基盤とメカニズムの解明
2. 細胞核構造・RNAボディとの相互作用によるクロマチンポテンシャルの時空間制御：核内の物理的環境や構造体のダイナミクスの解明
3. クロマチンポテンシャルの実体を担う分子複合体や細胞核構造の再構成：再構成による検証

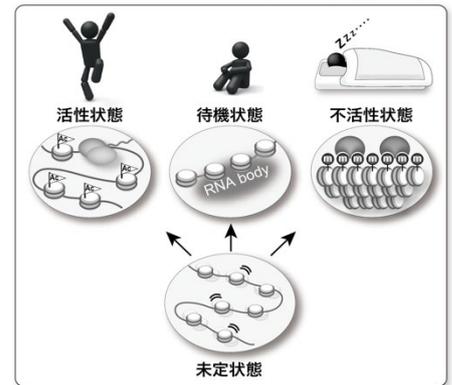


図2:クロマチンポテンシャルの概念

【本領域の進展により、革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域】クロマチン研究は、いまや「核全体を包括的に捉える」研究として発展しつつあり、米国の4Dヌクレオームプロジェクトに象徴されるように融合研究を目指して世界的にも進められている。これを実現するためには、顕微鏡画像化、ゲノム・エピゲノム解析、情報・数理解析等、多方面の学問分野からのアプローチが必要である。本領域は、イメージング（分子生物学、細胞生物学、発生学）、遺伝学、エピゲノム科学、構造生物学、計算科学（理論モデル）等、関連する多彩な学問分野で活躍している卓越した研究者を集結させた。その結果、イメージングと少数細胞のエピゲノム解析法の融合により、1細胞におけるクロマチン動態とエピゲノム構造を同時に解析・モデル化できるようになり、個々の細胞の個性を問う「シングルセル生物学」の分野に新たな展開をもたらすに至った。さらに、その成果として、幹細胞（例えば、がん幹細胞）と分化細胞（がん細胞）との違いを分析できるようになり、医学的な応用によって、新たな技術革新の実現が可能になった。また、クロマチン構造改変を介した遺伝子制御により細胞機能を自在に操ることが可能になれば、遺伝子変異やクロマチン異常が関与する様々な病気の治療や創薬分野への展開が期待できる。さらに、生物工学分野では、現在、ゲノムを全合成するGenome-writeプロジェクトが進行しているが、本領域の成果は人工クロマチンあるいは人工細胞核の創出(Chromatin-writeやNucleus-write)等に大きく発展する可能性がある。

【研究期間終了後に期待される成果】本領域は、遺伝子の「発現しやすさ」の状態が、どのような細胞核とクロマチンの要因（例えば、ヒストン修飾や、ヘテロクロマチン関連タンパク質、RNA-タンパク質複合体、クロマチン間の相互作用、核膜、物理的環境等）で決定づけられているかについて、その要因を明らかにするものである。これが実現すれば、その要因を除去したり増強したりすることで、遺伝子発現の活性化や抑制を多様な階層で制御することが可能となる。例えば、幹細胞を用いた再生医療のためには、目的とする種類の細胞を効率良く、高品質に分化させることが重要だが、特定の転写因子の働きに加えてクロマチン機能を制御することで、これを実現させることが可能となる。最近では、クロマチン構造あるいは（ヒストン修飾などの）エピゲノム制御の異常が、がんを始めとした様々な疾患の原因になることが示されている（Mirabella et al, *Chromosoma* 125, 75, 2016; Dawson, *Science* 355, 1147, 2017）。従って、病態の要因となるクロマチン制御機構が解明できれば、ゲノム操作なしで病態を正常化する方策の立案につながり、細胞を対象とした新たな治療法（細胞治療）の開発が可能になる。また、本領域の成果は、遺伝子制御のみならず、細胞核内で起こる全ての反応の基盤となるものであり、ゲノムの維持や複製の研究分野への波及効果も大きい。例えば、損傷DNAの蓄積を含めた細胞核やクロマチンの構造変化は老化と密接に関係すると考えられており、クロマチン構造の制御法が開発されれば、老化の防止法の開発に結びつく可能性がある。遺伝子制御機構の解明は、生物システムを理解する上で、最も重要な学術的課題のひとつである。従って、クロマチン構造のもつ「クロマチンポテンシャル」という概念を提示し、その実体を解明することができれば、学術的な価値は極めて高い。生命活動の根本的な原理の理解は、全人類の共通の財産として、知的好奇心を満たすと同時に、新しい発想を生む礎となる。

5 審査結果の所見及び中間評価結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

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

領域発足時の審査結果の所見(原文ママ):本研究領域は、領域代表者が開発したエピゲノム可視化技術を軸とした独自の解析技術を駆使し、クロマチン修飾・構造変化と遺伝子発現の関係を生細胞でダイナミックかつ定量的に捉え、生命現象の基本的理解を目指す重要性の高い提案である。本研究により、クロマチン構造が潜在的に持つ遺伝子発現制御能力「クロマチンポテンシャル」の実体が理解されれば、遺伝子発現制御の原理の理解が進むだけでなく、がんをはじめとする様々な疾患の病態正常化に向けた医療研究へとつながる可能性があり、学術的・社会的な波及効果が期待される。領域組織の運営に関しては、先行する新学術領域研究「動的クロマチン構造と機能」(平成25~29年度)での十分な実績・経験に基づくもので、領域代表者のビジョンは明確であり、領域組織内での有機的な連携が期待できる。また、各種の最先端解析技術を基盤とし、研究領域全体で共有することによって若手研究者を支援しながら成果を上げる体制も整っており、高く評価される。一方で、計測された定量的データに基づくモデリング解析の層をより厚くする必要性について検討すべきである。

(留意事項)・数理解析・シミュレーション解析の部分を補強するよう、公募研究の構成などに反映させること。

対応：下線部分について、以下のように対応した。

[定量的データ取得の強化] 数理解析やシミュレーション解析に必要な実測データの取得と定量化を強化した(図3)。木村宏計画研究(伊藤分担と共同)、山縣計画研究を中心に、蛍光イメージングで得られたデータの「定量化」を推進した。木村宏は、生きた細胞や発生中の初期胚などで、ヒストン修飾とRNAポリメラーゼIIリン酸化(リン酸化状態によって転写オンオフ状態が分かる)を、生きたままの状態で定量化する方法を開発した(Sato & Kimura H, *Methods Mol Biol* 2020; Forero-Quintero et al, *Nat Commun* 2021; Uchino et al, *J Cell Biol* 2022; Ohishi et al, *Nat Commun* 2022)。山縣は、マウス初期胚発生を長期間(3日間程度)に渡って観察できる低侵襲・低ダメージのイメージング法を開発し、染色体動態を定量的に評価する方法を確立した(Mashiko et al, *Sci Rep* 2020; Tokuoka et al, *Npj Syst Biol Appl* 2020; Mashiko et al, *Sci Rep* 2022; Hatano et al, *Genes Cells* 2022)。

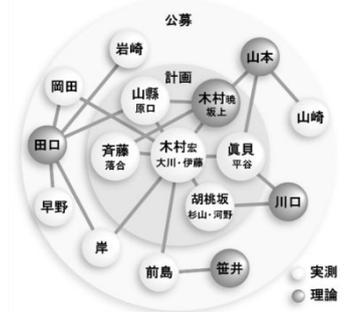


図3. 実測と理論の連携(前期)

[数理解析・シミュレーション・モデリング解析の強化] 数理解析は、木村暁計画研究を中心としたチームを組織した(図3)。木村暁計画代表と坂上分担との共同研究により線虫初期胚を観察し、細胞核の大きさとクロマチンの動きの関係を定式化することに成功した(Yesbolatova et al, *Phys Rev Lett* 2022)。公募では理論を得意とする研究者を積極的に登用することで補強を図った。実測・定量解析を得意とする研究者と、理論モデル化を得意とする研究者による小規模ミーティングを開催し、実測研究と理論研究の融合を図った。この成果として、多くの領域内共同研究が生まれた。理論解析の笹井公募代表は、実測の前島公募代表と連携し、高精度全ゲノム立体構造を計算することに成功し(Ashwin et al, *PNAS* 2019)、転写活性の高いユークロマチン領域でも、DNAが凝集塊のようなドメイン構造を取っていることを明らかにした(Nozaki et al, *Sci Advances* 2023)。さらに、理論解析の山本公募代表は、実測の山崎公募代表と連携し、理論物理学的アプローチにより、核内ボディが相分離する仕組みを明らかにした(Yamamoto, Yamazaki, et al, *Soft Matter* 2020; Yamazaki, Yamamoto et al, *EMBO J* 2021)。

(参考意見、原文ママ): 公募研究の採択目安件数が少ないのではないかとの意見があった。

対応：当初計画では、前期の公募の数を10件程度としていたが26件を採択、後期は19件を採択した。

[独自性の高い研究の採択] 理論研究以外にも、独自の手法で研究を進める研究課題を多く採択した。例えば、高速原子間力顕微鏡(atomic force microscopy: AFM)を使ってクロマチン構造を解析する柴田公募代表、クライオ蛍光顕微鏡と究極の対物レンズ「虎藤鏡」を使って世界最高分解能で核内構造解析を行う藤芳公募代表、「DNAカーテン」法を使ってDNAの構造変化を解析する寺川公募代表などである。その結果、本領域ならではの独自性の高い優れた融合研究が展開された(藤芳+木村宏: Ishida et al, *Opt Lett* 2021; 柴田+胡桃坂+杉山: Hirano et al, *Commun Biol* 2021等)。

中間評価の結果：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)

中間評価の所見（原文ママ）：本研究領域は、遺伝子発現など様々な制御を司るクロマチンに関する研究である。イメージングや数理モデルなど様々な研究手法を有する研究者が集うことで、非常に充実した多面的な領域構成になっていると評価できる。技術開発と観察を組み合わせることにより、相乗的に成果を生み出している。また、本研究領域では、女性研究者による国際会議も行われており、領域運営が多角的かつ意欲的に推進されている。本研究領域は、1細胞のエピゲノム解析を含む画期的な技術を開発するなど独自のアドバンテージを有しており、精度の高い研究を進めている。クロマチン研究は世界的に競争の激しい分野だが、エピゲノム操作の実現により多面的な解析が加速し、今後もオリジナリティの高い研究を継続して新たな領域を開拓していくことが望まれる。例えば、異なる階層の成果を統合して新しい学問領域を創出することや、本研究領域の成果に立脚したクロマチンの機能制御などの方向性の検討は重要な課題であると考えられる。総じて順調に研究が進行中で、今後、計画研究及び公募研究の各研究者の更なる融合により、クロマチン構造とそれが制御する種々の機能の解明の進展を期待したい。

<留意事項>本研究領域は、種々の生物系など広いスペクトルの現象を対象にしている。個々の研究成果は現時点では、広い領域の中の「点」としては輝いているが、それらの間の生物学としての関係がよく分からない。以後、これらの「点」をつなぎ、新しい学術領域としての形や新たな仮説を提示していただきたい。

[コメントに対する対応] 中間評価にて、領域内研究のより一層の連携強化を求められた。新型コロナウイルス感染拡大に伴って、対面式のミーティング開催やラボ訪問による連携が難しい中、オンラインによる領域内セミナー（Pitch Seminar, 毎月1回）や小規模研究会を開催することで領域内連携の強化を行った。国際的な連携強化については、2021年度にオンライン国際会議（木村宏領域代表、大川計画分担 齊藤計画代表、平岡計画代表）を、2022年には英国レスター大学において国際会議（Japan-UK Regulation through Chromatin Conference 2022）を実施し、海外の最新の研究動向を領域内に周知すると共に、領域内連携の強化を図った。その結果、木村宏領域代表を中心に、領域内や海外研究者との共同研究（大川計画分担、伊藤計画分担、胡桃坂計画代表、齊藤計画代表、落合計画分担、アメリカ・Stasevich 研、ドイツ・Heard 研、アメリカ・Gilbert 研、オランダ・Kind 研、スイス・Vastenhouw 研など）により単一細胞解析が進展し、その成果として、クロマチンポテンシャルの実体としてアセチル化修飾や高次クロマチン構造が転写ファクトリーの形成に働くことなどが新たに次々と明らかになった（Maehara et al, *Mol Syst Biol*, 2021; Bartlett et al, *J Cell Biol* 2021; Rang et al, *Mol Cell* 2022; Ohishi et al, *Nat Commun* 2022; Kuznetsova et al, *Curr Biol* 2023）。これらの結果に基づいて、木村宏は、転写ファクトリーのダイナミクスに関して新概念を提唱した（Kimura H & Sato, *Curr Opin Cell Biol* 2022）。さらに、その際に行ったゲノムワイドなクロマチン解析技術の開発によって、再発乳がんの理解が進むなど、疾患をクロマチン構造レベルで理解するという新時代の到来を予感させる展開に繋がった。

[疾患治療への展開の問題点と達成度] 領域発足時に、「がんをはじめとする様々な疾患の病態正常化に向けた医療研究へつながる可能性があり、波及効果が期待できる」との評価を受けた。それを実現するために、1細胞や組織切片でのエピゲノム解析技術を確立した（Harada et al, *Nat Cell Biol* 2019; Handa et al, *Nat Prot* 2020; Takahashi et al, *Nat Genet* 2019; Maehara et al, *Mol Syst Biol* 2021; Rang et al, *Mol Cell* 2022）。これらの解析技術などを用いて難治性乳がんでのエピゲノム状態やクロマチン構造と RNA ボディとの関連を検討したところ、エレノアと呼ばれる RNA ボディの存在が転写を制御することによって、乳がん再発に大きな役割をすることが明らかとなった（Abdalla et al, *Nat Commun* 2019; Fujita et al, *Commun Biol* 2020; Fukuoka et al, *Cancer Sci* 2022）。これは、術後5年以上経ってから起こる晩期再発乳がん発生を予見する上で大きな発見となった。この成果は、当領域の独自開発技術である1細胞ゲノムワイド解析技術をもつ木村宏と大川、平谷（眞貝計画分担）、構造解析技術をもつ胡桃坂、乳がんと RNA 解析技術をもつ齊藤との共同研究の賜であり、まさに点と点をつなぐことで得られた成果であると考えられるものである。

[若手研究者・女性研究者の支援] 若手研究者が PI を目指すのを支援する目的で、2019と2022年に、当領域（オーガナイザー：木村宏、齊藤、平谷、岡田公募代表）と EMBO との共催で、EMBO Laboratory Leadership Course を開催した。また、2019年（対面式）と2022年（オンライン）に女性研究者のための国際会議（International Symposium For Female Researchers in Chromatin Biology）を開催し、女性研究者の支援を行った。また、2022年の英国レスター大学での国際会議では、当領域から女性研究者3名を口頭発表の演者として選抜し、海外でのプレゼンス向上を支援した。

6 研究目的の達成度及び主な成果

(1) 領域設定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、(2) 本研究領域により得られた成果について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。(1)は研究項目ごと、(2)は研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。

本領域は「研究項目 A01」のみから成る。以下に、「研究項目 A01」の(1)達成目標と達成状況、(2)主な成果を記載する。

(1) 領域設定期間内の達成目標と達成状況

【達成目標】 領域設定期間内の達成目標は、**遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャルの実体を理解することである。**具体的には、遺伝子の「発現しやすさ」の状態が、どのような要因(ヒストン修飾や、ヘテロクロマチン関連タンパク質、RNA-タンパク質複合体、クロマチン間の相互作用、核膜、核の大きさや硬さなどの物理的環境等)で決定づけられているかについて、独自に開発した新規イメージング法やエピゲノム解析法などを駆使して、定量的な視点から明らかにする。領域発足時に設定した、以下の3項目(タイトル)が達成目標であり、より具体的な達成目標を小見出しとして箇条書きにした。

1. ユークロマチンとヘテロクロマチンの顕在化に伴うクロマチンポテンシャル変化の分子機構の解明
 - ・ エピゲノム状態の変化を、生きた細胞・胚で可視化・定量するイメージング法の確立
 - ・ 1細胞のエピゲノム状態(ヒストン修飾、複製など)をゲノムワイドに解析する方法の開発
 - ・ 細胞分化に伴って起こるヘテロクロマチンの形成・維持機構の解明
2. 細胞核構造・RNAボディとの相互作用によるクロマチンポテンシャルの時空間制御の理解
 - ・ 核内RNAボディであるエレノアRNAクラウドの役割の解明
 - ・ 減数分裂に必須なクロマチン構造形成に必要な要因(核構造、タンパク質、RNAなど)の理解
3. クロマチンポテンシャルの実体を担う分子複合体や細胞核構造の再構成
 - ・ マウス初期胚内での人工核再構成
 - ・ 胚発生のクロマチン運動に必要な物理パラメータの理解と理論モデル化
 - ・ ヌクレオソームとクロマチンタンパク質複合体の試験管内再構成と、その構造解析

【達成状況】 基盤技術となるイメージングやエピゲノム解析技術の開発を行った。その技術を用いて、領域内連携により研究を進めた。途中、新型コロナ禍により国内外研究者との対面による議論が制限されたが、リモート会議などを利用して、共同研究を推進した。**各項目とも、達成状況は極めて良好である。**

1. ユークロマチンとヘテロクロマチンの顕在化に伴うクロマチンポテンシャル変化の分子機構

・ エピゲノムの生細胞イメージング法の開発：木村宏は、エピゲノムを可視化するためのプローブとして独自開発した FabLEM (蛍光標識特異的抗体) を改良し、転写とヒストン修飾を同時可視化・定量する方法を開発した。それを用いて、ゼブラフィッシュ胚性ゲノム活性化時の転写とヒストン修飾の観察・定量化に成功し、ヒストン H3K27 のアセチル化 (H3K27ac) 修飾が、転写活性化のクロマチンポテンシャルの実体であることを証明した (Sato et al, *Development* 2019; Kuznetsova et al, *Curr Biol* 2022)。さらに、木村宏は、生きた細胞・胚でヒストン修飾を観察する蛍光プローブとして、転写開始反応を可視化する Ser5ph-Mintbody と転写伸長反応を可視化する Ser2ph-Mintbody の開発に成功した (Uchino et al, *J Cell Biol* 2022; 伊藤・大川と共同研究; Ohishi et al, *Nat Commun* 2022; 落合、大川との共同研究)。伊藤は、1分子動態と局在の同時観察および解析ソフトウェア開発に成功し (Lim et al, *Sci Rep* 2019; Ito et al, *bioRxiv* 2023)、転写領域での分子動態の解明に貢献した。山縣は、マウス胚発生を長時間(3日間)に渡って高精細イメージングする方法を開発し、卵割中の染色体動態を単一胚ごとに定量化する方法を確立した (Mashiko et al, *Sci Rep* 2020; Tokuoka et al, *Npj Syst Biol Appl* 2020; Mashiko et al, *Sci Rep* 2022; Hatano et al, *Genes Cells* 2022)。

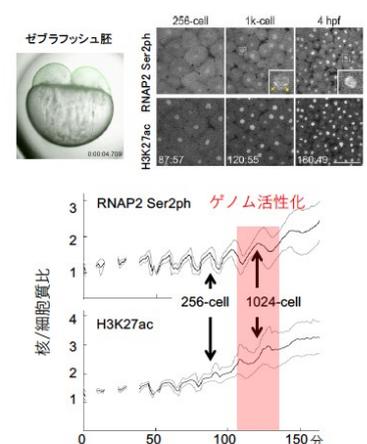


図4: ゼブラフィッシュ胚発生(左上)でのヒストン H3K27ac のイメージング(右上)と定量化(下)

・ 1細胞ゲノムワイドエピゲノム解析法の開発：大川と木村宏は、胡桃坂と連携し、1細胞のエピゲノム情報（ヒストン修飾状態など）をゲノムワイドに取得できる方法「クロマチン挿入標識(ChIL)法」を開発した (Harada et al, *Nat Cell Biol* 2019) (図5)。さらに、“ヒストン修飾”と“転写因子結合”の2成分を同時計測できる multi-ChIL を開発した (Handa et al, *Nat Protoc* 2020)。斉藤とも連携し、組織切片で解析できる tsChIL を開発した (Maehara et al, *Mol Syst Biol* 2021)。さらに、国際共同研究により ChIL と Cut&Tag を組み合わせた1細胞エピゲノム解析技術(TIP-seq)の開発にも成功した (Bartlett et al, *J Cell Biol* 2021)。平谷は小布施と連携して、1細胞全ゲノム DNA 複製解析法 scRepli-seq を開発した (Takahashi et al, *Nat Genet* 2019)。これを用いて、ES 細胞分化に伴う染色体の核内配置変化を調べたところ、分化に伴う染色体構造変化の実体（クロマチンポテンシャルを変化させる要素）が、A/B コンパートメント境界に存在するトポロジカルドメイン (TAD) の配置変化であることを1細胞レベルで突き止めた (Miura et al, *Nat Genet* 2019)。また、scRepli-seq を用いてマウス不活性 X 染色体の複製タイミングを1細胞レベルで解析することに成功し、不活性 X が折り畳まれる原理を解明した (Poomperm et al, *Nat Struct Mol Biol* 2023)。落合は木村宏、大川、斉藤と連携し、転写を1細胞でゲノムワイドに計測する方法を開発した (Ochiai et al, *Sci Adv* 2020)。さらに、木村宏、大川と連携し、目的遺伝子の核内局在と転写活性を同時に可視化・定量する方法 (STREAMING-tag) の開発にも成功した (Ohishi et al, *Nat Commun* 2022)。これらを使って、転写活性状態に必要な（クロマチンポテンシャル）因子を検討し、転写開始時に転写補因子 BRD4 が転写開始点近傍に集積することを発見した (Li et al, *Cell* 2019; Li et al, *Nat Struct Mol Biol* 2020; Ohishi et al, *Nat Commun* 2022)。

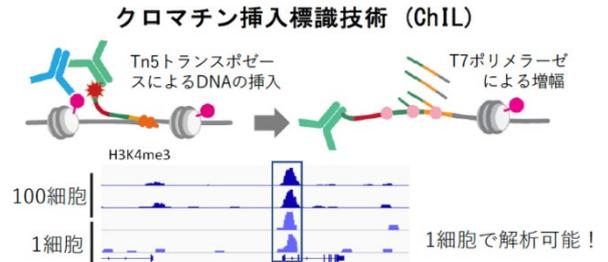


図5: 1細胞クロマチン挿入標識(ChIL)法の概要

・ ヘテロクロマチン構成タンパク質のヘテロクロマチン形成に対する役割の解明：眞貝は、ヘテロクロマチン形成に重要なヒストンメチル化酵素 SETDB1 の構成因子 ATF7IP の役割を検討し、ユビキチン化を促進することで、“遺伝子不活性化”という状態（クロマチンポテンシャル）維持に働くことを明らかにした (Tsusaka et al, *EMBO Rep* 2019)。平谷、木村宏と共同し、哺乳類の5種の H3K9 メチル化酵素の機能的な違いを発見した (Fukuda et al, *Commun Biol* 2021) ほか、H3K9 と H3K27 のメチル化の転写抑制における補完的役割を明らかにした (Fukuda et al, *Nucleic Acid Res* 2023)。岡田公募研究と共同し、レトロエレメント SVA (ヘテロクロマチン) 領域への KRAB-ZFP タンパク質の結合が、正常なヒト精子形成に重要であることを発見した (Fukuda et al, *eLife* 2022; 男性不妊の理解に繋がる成果)。中山は、ヘテロクロマチン構成タンパク質である HP1 およびヒストンメチル化酵素複合体の機能を解析し、ヘテロクロマチン形成に対する役割と細胞周期における動態を明らかにした (Oya et al, *EMBO Rep* 2019; Nishibuchi et al, *J Biochem* 2019)。小布施は X 染色体不活性化やヘテロクロマチン形成に関与する因子の機能を解析し、その変異が、筋ジストロフィー (Hamanaka et al, *Neurology* 2020)、下垂体ホルモン欠損症 (Kinjo et al, *Sci Rep* 2020)、発達障害・自閉症 (Kuroda et al, *Genet Medicine* 2023) の原因となることを発見した。ヘテロクロマチン形成異常が病気に繋がることを示した成果である。

2. 細胞核構造・RNA ボディとの相互作用によるクロマチンポテンシャルの時空間制御の理解

・ 核内 RNA ボディ、エレノア RNA クラウドの役割の解明：斉藤は大川、平谷と連携し、自らが発見したエレノアと名付けた非コード RNA が、乳がん細胞で巨大なクロマチン領域（エレノアクラウド）内の全ての遺伝子を転写活性化することを明らかにした (Yamamoto et al, *Sci Rep* 2018; Abdalla et al, *Nat Commun* 2019)。再発乳がんが増殖する仕組みを、領域内で開発されたゲノムワイド解析法を用いて解析し、エレノア発現量が、増殖を担う *ESR1* 遺伝子と細胞死を担う *FOXO3* 遺伝子の発現量のバランスを決定すること明らかにした (図6) (Yamamoto & Saitoh, *Curr Opin Cell Biol* 2019; Tachiwana et al, *Curr Opin Genet Dev* 2020)。さらに、斉藤は、乳がん患者組織を解析し、エレノアが、術後5年以上で再発する晩期再発に関係することを発見 (Fukuoka et al, *Cancer Sci* 2022)、難治性乳がん治療に道を拓いた。

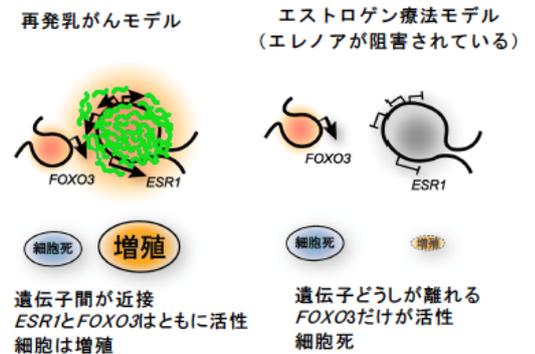


図6: エレノアクラウドが介するゲノムの立体構造と転写活性化の仕組み

・減数分裂に必須なクロマチン構造形成に必要な要因の理解：平岡は中山、原口と連携し、減数分裂期に必須なクロマチン構造として相同染色体対合過程に着目し、分裂酵母を用いて解析を行った。その結果、染色体上に蓄積した長鎖非コード RNA と、9 種の RNA 結合タンパク質が染色体対合を促進することを発見した (Ding et al, *Nat Commun* 2019)。その仕組みとして、RNA-タンパク質複合体による液-液相分離という物理現象が、相同染色体対合を促進するポテンシャルとなることを提唱した (Hiraoka, *Curr Genet* 2020)。平岡は原口と共同し、減数分裂期クロマチン構造にヒストン量やヒストン H2A.Z が必要であることを発見した (Yamamoto et al, *Sci Rep* 2019)。また、核膜タンパク質 Lem2 が非コード RNA の分解を抑制することを発見した (Martin Caballero et al, *Nat Struct Mol Biol* 2022; 国際共同研究)。

3. クロマチンポテンシャルの実体を担う分子複合体や細胞核構造の再構成

・マウス初期胚内での人工核再構成：山縣と原口は共同して、人工核を作りだすことで、機能的な核が構築される条件を検討した。直鎖状 DNA (約 8 kbp) を結合させた DNA ビーズをマウス受精卵に導入したところ、DNA にはヒストンが集積し、正常な核膜と核膜孔複合体をもつ人工核が形成された (Suzuki et al, *Sci Rep* 2019) (図 7)。しかし、この人工核には核移行活性が見られなかったために、様々な条件を試み、最終的に核小体様構造をもち核移行能がある人工核を形成させることに成功した。山縣は、マウス受精卵で使えるエピゲノム編集法を開発し、低 DNA メチル化状態のセントロメア領域に人為的にメチル化を導入することに成功した (Yamazaki et al, *Int J Mol Sci* 2020; *Methods Mol Biol* 2023)。木村宏と連携し、永久凍土のマンモスから分離した核をマウス受精卵に導入し、人工核としての活性を調べたところ、マンモス核がヒストン取込能や紡錘体形成活性をもつことを発見した (Yamagata et al, *Sci Rep* 2019)。

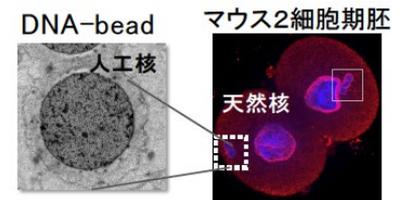


図7: マウス胚(右)に導入したDNAビーズ上に形成された人工核(左)

・胚発生におけるクロマチン運動に必要な物理パラメータの理解と理論モデル化：木村暁は、線虫胚発生のクロマチン動態 (運動、配置) と物理量 (形、位置、加わる力など) との関係を実測と理論モデル化により検討し、クロマチンが受ける引張力や運動性が胚発生に重要であることを報告した (Kondo & Kimura A, *Mol Biol Cell* 2019; Kimura K & Kimura A, *Mol Biol Cell* 2020)。木村暁は坂上と共同して、クロマチンの運動性を、細胞核の大きさの関数として定式化することに成功した (Yesbolatova et al, *Phys Rev Lett* 2022; クロマチンポテンシャルの定式化に繋がる成果)。坂上は、生きた細胞内でのクロマチン運動を説明する理論の構築に成功した (Sakaue, *React Funct Polym* 2019; Put et al, *Phys Rev E* 2019)。坂上は山本公募研究と共同で、クロマチンの loop-extrusion 過程を記述する理論モデルを構築した (Yamamoto et al, *Europhys Lett* 2019; Yamamoto et al, *Nucleic Acids Res* 2021)。

・ヌクレオソームの試験管内再構成と、その構造解析：胡桃坂は、試験管内再構成ヌクレオソームと RNA ポリメラーゼ II との結合をクライオ電子顕微鏡で観察し、ヌクレオソームが転写を阻害するバリアとして働くことを発見した (Kujirai et al, *Science* 2018) (図 8)。RNA 伸長因子を加えると、ヌクレオソームの転写バリア機能が軽減されることも発見した (Ehara et al, *Science* 2019; Ehara et al, *Science* 2022)。これらの結果は、ヌクレオソームが転写ポテンシャルの制御因子となることを証明するものである (Kujirai & Kurumizaka, *Curr Opin Struct Biol* 2020)。河野は、分子動力学シミュレーションを用いて、ヒストン分子の結合・

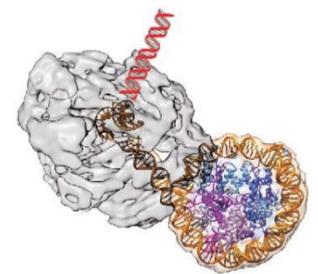


図8: ヌクレオソーム(右)と結合した RNA ポリメラーゼ

解離の仕組みを明らかにした (Ishida & Kono, *PNAS* 2021; *J Mol Biol* 2022)。さらに、ヒストンメチル化酵素 NSD2 の血液がんでみられる変異がメチル化を亢進する仕組みを明らかにした (Sato et al, *Nat Commun* 2021)。胡桃坂は杉山、河野と連携し、クロマチンリモデリング過程で形成されるオーバーラッピングジヌクレオソームの構造を明らかにした (Matsumoto et al, *Biophys J* 2020)。木村宏と連携し、セントロメア特異的な CENP-A ヌクレオソーム構造を解析し、CENP-A がセントロメアの H4K20me1 修飾に重要であること (Arimura et al, *Nat Commun* 2019)、セントロメア特有の“ねじれない”ループ状構造形成に重要であること (Takizawa et al, *Structure* 2020) を明らかにした。杉山、柴田公募研究と連携し、SAXS 解析や高速 AFM を用いてヌクレオソームを解析し、溶液中の H2A.B ヌクレオソームの動態や H2A.B 除去の影響を明らかにした (Hirano et al, *Commun Biol* 2021; Morioka et al, *Nano Letters* 2023)。

(2) 得られた成果

領域の目標である「遺伝子制御の基盤となるクロマチンポテンシャル」の実体解明に向けて、多くの成果が得られた。その多くは領域内連携によるものである。以下に、その主な成果を記載する。

<計画研究> 代表者は二重下線、分担者は一重下線、corresponding author は*印を付した。

Sato Y, 9 名, *Kimura H. Histone H3K27 acetylation precedes active transcription during zebrafish zygotic genome activation as revealed by live-cell analysis. *Development* 146, dev179127 (2019). (国際共同研究・異分野融合研究)

遺伝子“活性化”が起こりやすい(転写ポテンシャルが高い)待機状態のクロマチン構造の実体が、ヒストン H3K27 アセチル化であることを証明した論文: 蛍光プローブ (FabLEM) を用いて、ゼブラフィッシュの胚性ゲノムが活性化する際に起こるクロマチン構造変化を可視化し、ヒストン H3K27 のアセチル化(H3K27ac)が活性化に先だって起こり、さらに転写に必要であることを発見。定量解析や阻害剤を用いた実験から、このヒストン修飾が転写活性化のクロマチンポテンシャルの分子実体であることを証明した (図 9)。

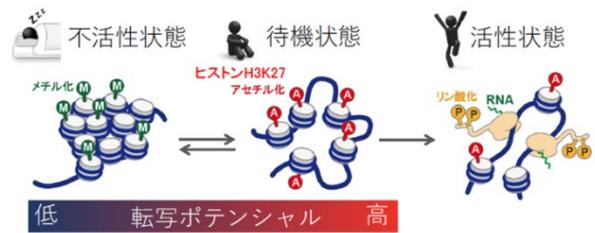


図 9: ヒストンアセチル化によって転写ポテンシャルが変化

Uchino S, Ito Y, Sato Y, Handa T, Ohkawa Y, Tokunaga M, *Kimura H. Live imaging of transcription sites using an elongating RNA polymerase II-specific probe. *J Cell Biol.* 221, e202104134 (2022). (領域内共同研究)

Ohishi H, 他 6 名, Ohkawa Y, Pertsinidis A, Yamamoto T, *Kimura H, *Ochiai H. STREAMING-tag system reveals spatiotemporal relationships between transcriptional regulatory factors and transcriptional activity. *Nat Commun* 13, 7672 (2022). (領域内共同研究・異分野融合研究)

転写活性状態で、転写開始場と伸長場が時空間的に離れていることを発見した論文: 生きた細胞で転写開始反応を特異的に可視化できる Ser5ph-Mintbody と転写伸長反応を可視化できる Ser2ph-Mintbody の開発に成功。目的遺伝子の核内局在と転写活性を同時に可視化・定量する方法 (STREAMIN-tag) の開発にも成功した。これらを使って、転写活性状態にあるクロマチン領域での転写サイトと転写因子との位置関係を検討したところ、転写開始点近傍に転写開始型 RNA ポリメラーゼ II (RNAPII Ser5ph) と転写補因子 BRD4 が集積していた (図 10)。しかし、その場所は、転写伸長サイト (伸長型 RNAPII Ser2ph が存在) とは異なっていた。これらの結果から、転写開始場と伸長場が異なる新しいモデルを提唱した。

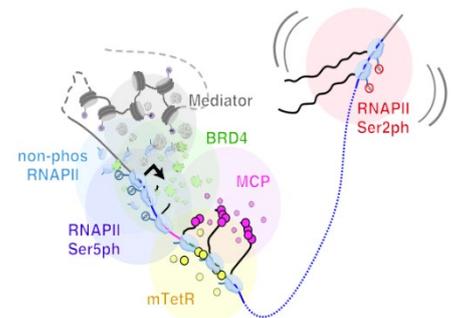


図 10: 転写開始場と伸長場の時空間ダイナミクスが明らかになった

Harada A, Maehara K, 他 5 名, Kurumizaka H, *Kimura H, *Ohkawa Y. Chromatin integration labeling technology enables low-input epigenomic profiling. *Nat Cell Biol* 21, 287-296 (2019). (領域内共同研究・異分野融合研究)

Handa T, 5 名, Kurumizaka H, *Ohkawa Y, *Kimura H. Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input. *Nat Protoc* 15, 3334-3360 (2020). (領域内共同研究・異分野融合研究)

Maehara K, 他 5 名, Kurumizaka H, Saitoh N, Kimura H, *Ohkawa Y. Modeling population size independent tissue epigenomes by ChIL-seq with single thin sections. *Mol Syst Biol.* 17, e10323 (2021). (領域内共同研究)

1細胞・単一組織切片のマルチエピゲノムが解析できる技術を開発した論文: 目的細胞のエピゲノム情報 (ヒストン修飾状態など) が取得できる方法として、1~100 個程度の少数細胞から、ゲノムワイドなヒストン修飾が解析できる「クロマチン挿入標識法 (ChIL)」を開発。この技術開発により、発生や細胞分化過程の 1 細胞のエピゲノムの解析が可能となった。これを発展させ、複数のヒストン修飾状態が同時に解析できる「multi-ChIL」を開発 (図 11)。さらに、組織切片でもゲノムワイドなエピゲノム情報が解析できる「ts-ChIL」を開発した (図 11)。これらの技術開発は、組織幹細胞やがん幹細胞などの理解に繋がる成果。

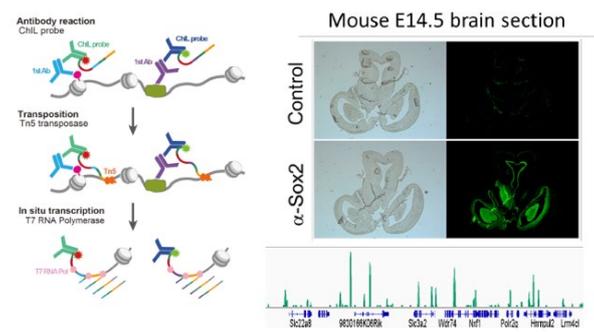


図 11. multi-ChIL 法の概要(左)と脳組織切片(右上)に対する ts-ChIL エピゲノム解析(右下)

Takahashi S, 他 5 名, Obuse C, *Takebayashi SI, *Hiratani I. Genome-wide stability of the DNA replication program in single mammalian cells. *Nat Genet* 51, 529-540 (2019). (領域内共同研究)

Miura H, 他 4 名, *Hiratani I. Single-cell DNA replication profiling identifies spatiotemporal dynamics of chromosome organization. *Nat Genet* 51, 1356-1368 (2019).

1 細胞レベルでの核内コンパートメント制御因子の探索・解析法を確立した論文：1 細胞全ゲノム DNA 複製解析法 scRepli-seq を開発した。この方法を用いて、ES 細胞分化に伴う核内コンパートメント A/B の核内分布変化を検討し、分化に伴う染色体構造変化の実態が、A/B コンパートメントの境界に存在するトポロジカルドメイン (TAD) の変化であることを 1 細胞レベルで突き止めた (図 12)。

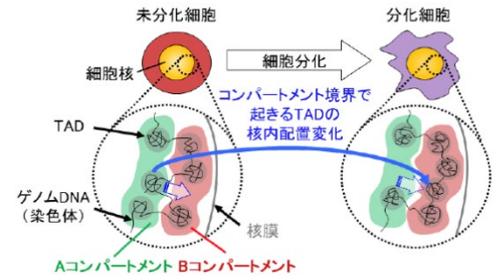


図 12: 細胞分化に伴って起こる A/B コンパートメントの核内配置の変化

Abdalla MOA, Yamamoto T, Maehara K, Ohkawa Y, Miura H, Hiratani I, Nakayama H, *Nakao M, *Saitoh N. The Eleanor ncRNAs activate the topological domain of the ESR1 locus to balance against apoptosis. *Nat Commun* 10, 3778 (2019). (領域内共同研究・異分野融合研究)

Fukuoka M, 他 9 名, *Saitoh N. The ELEANOR non-coding RNA expression contributes to cancer dormancy and predicts late recurrence of ER-positive breast cancer. *Cancer Science* 113, 2336-2351 (2022).

再発乳がんで見られる核内 RNA ボディ (エレノアクラウド) の形成機構とクロマチン制御に対する機能を解明した論文：Hi-C と 4C-Seq を用いて、エレノア RNA が、巨大クロマチンドメイン内の全遺伝子を転写活性化することを明らかにした。再発乳がんが増殖する仕組みとして、エレノア発現量が、増殖を担う *ESR1* 遺伝子と細胞死を担う *FOXO3* 遺伝子との発現量のバランスを決定することを提唱。また、エレノアの存在は、術後 5 年以上の晩期再発乳がんの発生頻度を上昇させることを報告した。晩期再発乳がんの早期発見に道を拓く成果。

Yesbolatova AK, Arai R, *Sakaue T, *Kimura A. Formulation of chromatin mobility as a function of nuclear size during *C. elegans* embryogenesis using polymer physics theories. *Phy Rev Lett* 128, 178101 (2022) (領域内共同研究・異分野融合研究)

転写ポテンシャルに關与するクロマチン運動性を、核の大きさの関数として定式化した論文：これまで困難であった「激しく動く核の動きの影響を排除する」新手法を開発したことによって、クロマチンの動きのみを抽出することが可能となったことで定式化が実現した (図 13)。

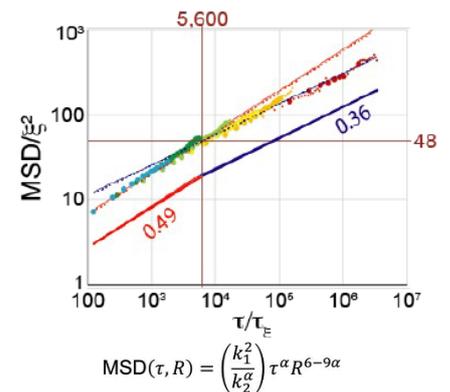


図 13: 核の大きさで標準化されたクロマチン運動性 (縦軸) と時間 (横軸) の関

<公募研究>

*Yamazaki T, Yamamoto T, 他 5 名. Paraspeckles are constructed as block copolymer micelles. *EMBO J* 40, e107270 (2021) (領域内共同研究・異分野融合研究)

理論物理学的アプローチにより、長鎖非コード RNA による相分離のメカニズムを明らかにした論文：核内ボディであるパラスペックル RNA (NEAT1) が相分離を起こす条件をソフトマター物理学の視点を入れて検討し、RNA-タンパク質複合体が共重合体として働くことが重要であることを明らかにした。

Ashwin SS, Nozaki T, Maeshima K, *Sasai M. Organization of fast and slow chromatin revealed by single-nucleosome dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*. 16:19939-19944 (2019). (領域内共同研究・異分野融合研究)

Fujishiro S, *Sasai M. Generation of dynamic three-dimensional genome structure through phase separation of chromatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2022) 119, e2109838119.

実測と理論を組み合わせ、転写がクロマチンの動きを抑制していることを明らかにした論文：単一ヌクレオソームの可視化で得られたクロマチン動きを、運動性の異なるクロマチンドメインの存在を仮定した DNA ポリマーの理論モデル化で説明した。さらに、DNA を 1 kb 解像度の高分子構造として計算を行い、ドメイン、コンパートメント、テリトリーに及ぶクロマチンの階層構造と機能の関係を理論的に構築することに成功した。ゲノムアーキテクチャを高精度で定量的に説明する世界初のモデル。

7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、ホームページ、主催シンポジウム、一般向けアウトリーチ活動等の状況。令和5年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に*印を付すこと。

「研究項目 A01」（本領域は、A01のみ）

【主な論文（査読有り）、計画研究（公募研究との共著論文を含む）】 領域内共同研究は番号に○、領域番号を謝辞に含む査読有り論文合計 228 報

- ① *Fukuda K, (他 7 名) Hiratani I, (他 5 名) Kimura H, *Shinkai Y. Epigenetic plasticity safeguards heterochromatin configuration in mammals. *Nucleic Acids Res* gkad387 (2023) published online
2. Kuznetsova K, (他 6 名) Kimura H, Jug F, *Vastenhouw NL. Nanog organizes transcription bodies. *Curr Biol*. 33, 164-173.e5 (2023)
3. Fosado YAG, Landuzzi F, *Sakaue T. Coarse Graining DNA: Symmetry, Non-local Elasticity and Persistence Length. *Phys Rev Lett* 130, 058402 (2023)
- ④ Poonperm R, (他 4 名) Obuse C, Sado T, *Hiratani I. Replication dynamics identifies the folding principles of the inactive X chromosome. *Nat Struct Mol Biol* (2023) in press
5. Kuroda Y, (他 29 名) *Obuse C, *Roscioli T, *Izumi K. Dominant-negative mutations in CBX1 cause a neurodevelopmental disorder. *Genet Medicine* 100861 (2023) published online
- ⑥ Morioka S, (他 11 名) Kurumizaka H, *Shibata M. High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Spontaneous Nucleosome Sliding of H2A.Z at the Subsecond Time Scale. *Nano Lett* 23, 1696-1704 (2023)
- ⑦ Ohishi H, (他 6 名) Ohkawa Y, (他 2 名) *Kimura H, *Ochiai H. STREAMING-tag system reveals spatiotemporal relationships between transcriptional regulatory factors and transcriptional activity. *Nat Commun* 13, 7672 (2022)
- ⑧ Uchino S, Ito Y, (他 2 名) Ohkawa Y, Tokunaga M, *Kimura H. Live imaging of transcription sites using an elongating RNA polymerase II-specific probe. *J Cell Biol* 221, e202104134 (2022)
9. *Kimura H, Sato Y. Imaging transcription elongation dynamics by new technologies unveils the organization of initiation and elongation in transcription factories. *Curr Opin Cell Biol* 74, 71-79 (2022)
10. Rang FJ, (他 7 名) Kimura H, Bakkers J, *Kind J. Single-cell profiling of transcriptome and histone modifications with EpiDamID. *Mol Cell* 82, 1956-1970 (2022)
11. Mashiko D, (他 7 名) *Yamagata K. Asynchronous division at 4–8-cell stage of preimplantation embryos affects live birth through ICM/TE differentiation. *Sci Rep* 12, 9411 (2022)
12. Hatano Y, Mashiko D, Tokoro M, Yao T, *Yamagata K. Chromosome counting in the mouse zygote using low-invasive super-resolution live-cell imaging. *Genes Cells* 27, 214-228 (2022)
- ⑬ *Haraguchi T, (他 13 名) Hiraoka Y. Transfected plasmid DNA is incorporated into the nucleus via nuclear envelope reformation at telophase. *Commun Biol* 5, 78 (2022)
- ⑭ Yesbolatova AK, Arai R, *Sakaue T, *Kimura A. Formulation of chromatin mobility as a function of nuclear size during *C. elegans* embryogenesis using polymer physics theories. *Phys Rev Lett* 128, 178101 (2022)
- ⑮ *Fukuda K, Makino Y, Kaneko S, Shimura C, Okada Y, *Shinkai Y. Potential role of KRAB-ZFP binding and transcriptional states on DNA methylation of retroelements in human male germ cells. *Elife* 11, e76822 (2022)
- ⑯ Matsumori H, (他 3 名) Ito Y, (他 3 名) Haraguchi T, Awazu A, Ochiai H, (他 6 名) *Nakao M, *Saitoh N. Ribosomal protein L5 facilitates rDNA-bundled condensate and nucleolar assembly. *Life Sci Alliance* 5, e202101045 (2022)
17. Fukuoka M, (他 9 名) *Saitoh N. The ELEANOR non-coding RNA expression contributes to cancer dormancy and predicts late recurrence of ER-positive breast cancer. *Cancer Sci* 113, 2336-2351 (2022)
- ⑱ *Sakuno T, (他 4 名) Haraguchi T, *Noma KI, *Hiraoka Y. Rec8 Cohesin-mediated Axis-loop chromatin architecture is required for meiotic recombination. *Nucleic Acids Res* 50, 3799-3816(2022)
19. Martin Caballero L, (他 12 名) Hiraoka Y, *Braun S. The inner nuclear membrane protein Lem2 coordinates RNA degradation at the nuclear periphery. *Nat Struct Mol Biol* 29, 91-921 (2022)
- ⑳ Hirano R, (他 4 名) *Sekine S, *Kurumizaka H. Structural basis of RNA polymerase II transcription on the chromosome containing linker histone H1. *Nat Commun* 13, 7287 (2022)
21. *Ishida H, Kono H. Free energy landscape of H2A-H2B displacement from nucleosome. *J Mol Biol* 434, 167707 (2022)
22. Ehara H, (他 2 名) *Kurumizaka H, *Sekine S. Structural basis of nucleosome disassembly and reassembly by RNAPII elongation complex with FACT. *Science* 377, eabp9466 (2022)
- ㉓ Tjalsma SJD, (他 12 名) Ohkawa Y, Kurumizaka H, da Rocha ST, *Zylicz JJ, *Kimura H, *Heard E. H4K20me1 and H3K27me3 are concurrently loaded onto the inactive X chromosome but dispensable for inducing gene silencing. *EMBO Rep* 22, e51989 (2021)
- ⑳ Ishida K, (他 5 名) Kimura H, *Fujiyoshi S. Variable immersion microscopy with a high numerical aperture. *Opt Lett* 46, 856-859 (2021)
- ㉔ Maehara K, (他 7 名) Kurumizaka H, Saitoh N, Kimura H, *Ohkawa Y. Modeling population size independent tissue epigenomes by ChIL-seq with single thin sections. *Mol Sys Biol* 17, e10323 (2021)

- (26) *Tachiwana H, (他 5 名) [Ohkawa Y](#), [Kimura H](#), [Kurumizaka H](#), *[Saitoh N](#). Chromatin structure-dependent histone incorporation revealed by a genome-wide deposition assay. *Elife* 10, e66290 (2021)
- (27) *Hayashi-Takanaka Y, (他 3 名) [Ohkawa Y](#), [Obuse C](#), [Kimura H](#), [Haraguchi T](#), *[Hiraoka Y](#). Chromatin loading of MCM hexamers is associated with di-/tri-methylation of histone H4K20 toward S phase entry. *Nucleic Acids Res* 49, 12152-12166 (2021)
28. Forero-Quintero LS, (他 4 名) [Kimura H](#), (他 2 名) *[Stasevich TJ](#). Live-cell imaging reveals the spatiotemporal organization of endogenous RNA polymerase II phosphorylation at a single gene. *Nat Commun* 12, 3158 (2021)
- (29) Bartlett DA, (他 2 名) [Ohkawa Y](#), [Kimura H](#), Henikoff S, *[Gilbert DM](#). High-throughput single-cell epigenomic profiling by targeted insertion of promoters (TIP-seq). *J Cell Biol* 220, e202103078 (2021)
30. Honda M, Oki S, (他 5 名) *[Ohkawa Y](#). High-depth spatial transcriptome analysis by photo-isolation chemistry. *Nat Commun* 12, 4416 (2021)
- (31) *[Yamamoto T](#), [Sakaue T](#), Schiessel H. Slow chromatin dynamics enhances promoter accessibility to transcriptional condensates. *Nucleic Acids Res* 49, 5017 (2021)
- (32) *[Fukuda K](#), (他 5 名) [Hiratani I](#), *[Shinkai Y](#). Regulation of mammalian 3D genome organization and histone H3K9 dimethylation by H3K9 methyltransferases. *Commun Biol* 4:571 (2021)
- (33) Hirano R, (他 2 名) [Shibata M](#), (他 3 名) [Sugiyama M](#), *[Kurumizaka H](#). Histone variant H2A.B-H2B dimers are spontaneously exchanged with canonical H2A-H2B in the nucleosome. *Commun Biol* 4, 191 (2021)
34. *[Ishida H](#), [Kono H](#). Torsional stress can regulate the unwrapping of two outer half superhelical turns of nucleosomal DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118, e2020452118 (2021)
35. Sato K, (他 8 名) [Kono H](#), *[Ogata K](#), *[Sengoku T](#). Structural basis of the regulation of the normal and oncogenic methylation of nucleosomal histone H3 Lys36 by NSD2. *Nat Commun* 12, 6605 (2021)
- (36) Handa T, (他 5 名) [Kurumizaka H](#), *[Ohkawa Y](#), *[Kimura H](#). Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input. *Nat Protoc* 15, 3334-3360 (2020)
37. *Hayashi-Takanaka Y, (他 6 名), *[Kimura H](#). Histone modification dynamics as revealed by a multicolor immunofluorescence-based single-cell analysis. *J Cell Sci* 133, jcs243444 (2020)
- (38) *[Ochiai H](#), (他 6 名) [Saitoh N](#), (他 3 名) [Ohkawa Y](#), [Kimura H](#), *[Nikaido I](#). Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. *Sci Adv* 6, eaaz6699 (2020)
- (39) Horisawa K, Udono M, Ueno K, [Ohkawa Y](#), Nagasaki M, Sekiya S, *[Suzuki A](#). The dynamics of transcriptional activation by hepatic reprogramming factors. *Mol Cell* 79, 660-676 (2020)
40. Mashiko D, Ikeda Z, Yao T, Tokoro M, Fukunaga N, Asada Y, *[Yamagata K](#). Chromosome segregation error during early cleavage in mouse pre-implantation embryo does not necessarily cause developmental failure after blastocyst stage. *Sci Rep* 10, 854 (2020)
41. *[Yamazaki T](#), Hatano Y, Taniguchi R, Kobayashi N, *[Yamagata K](#). Editing DNA Methylation in Mammalian Embryos. *Int J Mol Sci* 21, 637 (2020)
42. Tokuoka Y, (他 5 名) [Yamagata K](#), *[Funahashi A](#). 3D convolutional neural networks-based segmentation to acquire quantitative criteria of the nucleus during mouse embryogenesis. *Npj Syst Biol Appl* 6, 32 (2020)
- (43) *[Nakano T](#), Okaie Y, Kinugasa Y, Koujin T, Suda T, [Hiraoka Y](#), [Haraguchi T](#). Roles of Remote and Contact Forces in Epithelial Cell Structure Formation. *Biophys J* 118, 1466-1478 (2020)
44. *[Kimura K](#), [Kimura A](#). Cytoplasmic streaming drifts the polarity cue and enables posteriorization of the *Caenorhabditis elegans* zygote at the side opposite of sperm entry. *Mol Biol Cell*, 31, 1765-1773 (2020)
45. Kinjo K, (他 8 名) [Obuse C](#), Miyado K, Ogata T, *[Fukami M](#), *[Miyado M](#). Rare variant of the epigenetic regulator SMCHD1 in a patient with pituitary hormone deficiency. *Sci Rep* 10, 10985 (2020)
46. Hamanaka K, (他 10 名) [Obuse C](#), Noguchi S, Hayashi YK, Kuwabara S, Balog J, *[Nishino I](#), van der Maarel SM. Homozygous nonsense variant in LRIF1 associated with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology* 94, e2441 (2020)
47. Tachiwana H, Yamamoto T, *[Saitoh N](#). Gene regulation by non-coding RNAs in the 3D genome architecture. *Curr Opin Genet Dev* 61, 69-74 (2020)
- (48) Fujita R, (他 10 名) *[Saitoh N](#), *[Kurumizaka H](#). Nucleosome destabilization by nuclear non-coding RNAs. *Commun Biol* 3, 60 (2020)
- (49) Hirano Y, (他 5 名) [Haraguchi T](#), *[Hiraoka Y](#). Lem2 and Lnp1 maintain the membrane boundary between the nuclear envelope and endoplasmic reticulum. *Commun Biol* 3, 276 (2020)
50. *[Hiraoka Y](#). Phase separation drives pairing of homologous chromosomes. *Curr Genet* 66, 881-887 (2020)
- (51) Morishima K, (他 9 名) [Kurumizaka H](#), *[Sugiyama M](#). Integral approach to biomacromolecular structure by analytical-ultracentrifugation and small-angle scattering. *Commun Biol* 3, 294 (2020)
- (52) Kujirai T, Kurumizaka H. Transcription through the nucleosome. *Curr Opin Struct Biol* 61, 42-49 (2020)
53. Harada A, (他 6 名) [Kurumizaka H](#), *[Kimura H](#), *[Ohkawa Y](#). Chromatin integration labeling technology enables low-input epigenomic profiling. *Nat Cell Biol* 21, 287-296 (2019)
- (54) Arimura Y, Tachiwana H, Takagi H, Hori T, [Kimura H](#), Fukagawa T, *[Kurumizaka H](#). The CENP-A centromere targeting domain facilitates H4K20 monomethylation in the nucleosome by structural polymorphism. *Nat Commun* 10, 576 (2019)
- (55) [Yamagata K](#), (他 16 名) [Kimura H](#), Hosoi Y, Mitani T, Matsumoto K, *[Iritani A](#). Signs of biological activities of 28,000-year-old mammoth nuclei in mouse oocytes visualized by live-cell imaging. *Sci Rep* 9, 4050 (2019)

56. Sato Y, (他 9 名) *[Kimura H](#). Histone H3K27 acetylation precedes active transcription during zebrafish zygotic genome activation as revealed by live-cell analysis. *Development* 146, dev179127 (2019)
- (57) *[Konno D](#), Kishida C, Maehara K, [Ohkawa Y](#), Kiyonari H, Okada S, *[Matsuzaki F](#). Dmrt factors determine the positional information of cerebral cortical progenitors via differential suppression of homeobox genes. *Development* 146, dev174243 (2019)
- (58) Abdalla MOA, (他 3 名) [Ohkawa Y](#), (他 2 名) [Hiratani I](#), (他 2 名) *[Saitoh N](#). The Eleanor ncRNAs activate the topological domain of the ESR1 locus to balance against apoptosis. *Nat Commun* 10, 3778 (2019)
- (59) Suzuki Y, Bilir Ş, Hatano Y, Fukuda T, Mashiko D, Kobayashi S, [Hiraoka Y](#), *[Haraguchi T](#), *[Yamagata K](#). Nuclear formation induced by DNA-conjugated beads in living fertilised mouse egg. *Sci Rep* 9, 8461 (2019)
- (60) Bilir Ş, (他 5 名) *[Hiraoka Y](#), *[Haraguchi T](#). Roles of Nup133, Nup153 and membrane fenestrations in assembly of the nuclear pore complex at the end of mitosis. *Genes Cells* 24, 338-353 (2019)
- (61) Iwamoto M, (他 3 名) [Hiraoka Y](#), *[Haraguchi T](#). Identification of the evolutionarily conserved nuclear envelope proteins Lem2 and MicLem2 in *Tetrahymena thermophila*. *GeneX* 1, 100006 (2019)
- (62) *[Asakawa H](#), (他 8 名) [Obuse C](#), *[Hiraoka Y](#), *[Haraguchi T](#). Asymmetrical localization of Nup107-160 subcomplex components within the nuclear pore complex in fission yeast. *PLoS Genet* 15, e1008061 (2019)
63. Kondo T, *[Kimura A](#). Choice between 1- and 2-furrow cytokinesis in *Caenorhabditis elegans* embryos with tripolar spindles. *Mol Biol Cell* 30, 2065-2075 (2019)
- (64) *[Yamamoto T](#), [Sakaue T](#), Schiessel H. Loop extrusion drives very different dynamics for Rouse chain in bulk solutions and at interfaces. *Europhys Lett* 127, 38002:1-6 (2019)
65. *[Sakaue T](#). Statistical physics of ring polymers based on topological volume concept. *React Funct Polym* 134, 150 (2019)
66. Put S, [Sakaue T](#), *[Vanderzande C](#). Active dynamics and spatially coherent motion in chromosomes subject to enzymatic force dipoles. *Phys Rev E* 99, 032421 (2019)
- (67) Miura H, Takahashi S, Poonperm R, Tanigawa A, Takebayashi SI, *[Hiratani I](#). Single-cell DNA replication profiling identifies spatiotemporal dynamics of chromosome organization. *Nat Genet* 51, 1356-1368 (2019)
- (68) Takahashi S, (他 5 名) [Obuse C](#), *[Takebayashi SI](#), *[Hiratani I](#). Genome-wide stability of the DNA replication program in single mammalian cells. *Nat Genet* 51, 529-540 (2019)
69. Tsusaka T, Shimura C. *[Shinkai Y](#). ATF7IP regulates SETDB1 nuclear localization and increases its ubiquitination. *EMBO Rep* 20, e48297 (2019).
70. Yamamoto T, *[Saitoh N](#). Non-coding RNAs and chromatin domains. *Curr Opin Cell Biol* 58, 26-33 (2019)
- (71) *[Seirin-Lee S](#), Osakada F, Takeda J, Tashiro S, Kobayashi R, Yamamoto T, *[Ochiai H](#). Role of dynamic nuclear deformation on genomic architecture reorganization. *PLoS Comput Biol* 15, e1007289 (2019)
72. Li J, (他 4 名) [Ochiai H](#), Yamamoto T, *[Pertsinidis A](#). Single-Molecule Nanoscopy Elucidates RNA Polymerase II Transcription at Single Genes in Live Cells. *Cell* 178, 491-506 (2019)
- (73) Oya E, (他 7 名) [Kurumizaka H](#), Tagami H, *[Nakayama J](#). H3K14 ubiquitylation promotes H3K9 methylation for heterochromatin assembly. *EMBO Rep* 20, e48111 (2019)
- (74) Nishibuchi G, (他 5 名) [Kurumizaka H](#), Tagami H, *[Nakayama J](#). Mitotic phosphorylation of HP1 α regulates its cell cycle-dependent chromatin binding. *J Biochem* 165, 433-446 (2019)
- (75) *[Ding DQ](#), Okamasa K, Katou Y, Oya E, [Nakayama J](#), Chikashige Y, Shirahige K, [Haraguchi T](#), *[Hiraoka Y](#). Chromosome-associated RNA-protein complexes promote pairing of homologous chromosomes during meiosis in *Schizosaccharomyces pombe*. *Nat Commun* 10, 5598 (2019)
- (76) Kinugasa Y, Hirano Y, Sawai M, Ohno Y, Shindo T, Asakawa H, Chikashige Y, Shibata S, Kihara A, [Haraguchi T](#), *[Hiraoka Y](#). The very-long-chain fatty acid elongase Elo2 rescues lethal defects associated with loss of the nuclear barrier function in fission yeast cells. *J Cell Sci* 132, jcs229021 (2019)
- (77) Yamamoto TG, Ding DQ, Nagahama Y, Chikashige Y, [Haraguchi T](#), *[Hiraoka Y](#). Histone H2A insufficiency causes chromosomal segregation defects due to anaphase chromosome bridge formation at rDNA repeats in fission yeast. *Sci Rep* 9, 7159 (2019)
- (78) Matsumoto A, *[Sugiyama M](#), Li Z, Martel A, Porcar L, Inoue R, Kato D, Osakabe A, *[Kurumizaka H](#), *[Kono H](#). Structural Studies of Overlapping Dinucleosomes in Solution. *Biophys J* 118, 1-11 (2019)
79. Takizawa Y (他 9 名) *[Wolf M](#), *[Kurumizaka H](#). Cryo-EM Structures of Centromeric Tri-nucleosomes Containing a Central CENP-A Nucleosome. *Structure* 28, 44-53 (2019)
80. Ehara H, Kujirai T, Fujino Y, Shirouzu M, *[Kurumizaka H](#), *[Sekine SI](#). Structural insight into nucleosome transcription by RNA polymerase II with elongation factors. *Science* 363, 744-747 (2019)
81. Lim WM, [Ito Y](#), Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. CLIP-170 is essential for MTOC repositioning during T cell activation by regulating dynein localisation on the cell surface. *Sci Rep* 8, 17447 (2018)
82. Kujirai T, Ehara H, Fujino Y, Shirouzu M, *[Sekine SI](#), *[Kurumizaka H](#). Structural basis of the nucleosome transition during RNA polymerase II passage. *Science* 362, 595-598 (2018)

【主な論文、公募研究】 公募研究間共同研究は番号に○、領域番号を謝辞に含む査読有り論文、合計 111 報

1. Fukushima HS, Takeda H, *[Nakamura R](#). Incomplete erasure of histone marks during epigenetic reprogramming in medaka early development. *Genome Res* gr.277577.122 (2023) in press
- (2) Kanoh Y, Ueno M, [Hayano M](#), Kudo S, *[Masai H](#). Aberrant association of chromatin with nuclear periphery induced by Rif1 leads to mitotic defect and cell death. *Life Sci Alliance* 6, e202201603 (2023)

3. *[Taguchi YH](#), Turki T. A tensor decomposition-based integrated analysis applicable to multiple gene expression profiles without sample matching. *Sci Rep* 12, 21242 (2022)
4. Takeuchi C, Yokoshi M, Kondo S, Shibuya A, Saito K, Fukaya T, *Siomi H, *[Iwasaki YW](#). Mod(mdg4) variants repress telomeric retrotransposon HeT-A by blocking subtelomeric enhancers. *Nucleic Acids Res*, 50(20) 11580-11599 (2022)
5. Fujishiro S, *[Sasai M](#). Generation of dynamic three-dimensional genome structure through phase separation of chromatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 119, e2109838119 (2022)
6. Iida S, Shinkai S, Itoh Y, Tamura S, Kanemaki MT, Onami S, *[Maeshima K](#). Single-nucleosome imaging reveals steady-state motion of interphase chromatin in living human cells. *Sci Adv* 8, eabn5626 (2022)
7. Tomikawa J, Penfold CA, Kamiya T, Hibino R, Kosaka A, Anzai M, Matsumoto K, *[Miyamoto K](#). Cell division- and DNA replication-free reprogramming of somatic nuclei for embryonic transcription. *iScience* 24, 103290 (2021)
8. Adachi K, *[Kawaguchi K](#). Surface wetting by kinetic control of liquid-liquid phase separation. *Phys Rev E*, 104, L042801 (2021)
9. Nagae F, Brandani GB, Takada S, *[Terakawa T](#). The lane-switch mechanism for nucleosome repositioning by DNA translocase. *Nucleic Acids Res* 49, 9066 (2021)
10. *[Kato H](#), Shimizu M, Urano T. Chemical map-based prediction of nucleosome positioning using the Bioconductor package nuCpos. *BMC Bioinformatics* 22, 322 (2021)
11. *[Yamazaki T](#), [Yamamoto T](#), Yoshino H, Souquere S, Nakagawa S, Pierron G, Hirose T. Paraspeckles are constructed as block copolymer micelles. *EMBO J* 40, e107270 (2021)
12. Oizumi Y, (他 4 名) *[Kanoh J](#). Complete sequences of *Schizosaccharomyces pombe* subtelomeres reveal multiple patterns of genome variation. *Nat Commun* 12, 611 (2021)
13. Eto H, *[Kishi Y](#), (他 4 名) *Gotoh Y. The Polycomb group protein Ring1 regulates dorsoventral patterning of the mouse telencephalon. *Nat Commun* 11, 5709 (2020)
14. Gu N, [Tamada Y](#), Imai A, Palfalvi G, Kabeya Y, Shigenobu S, Ishikawa M, Angelis KJ, *Chen C, *Hasebe M. DNA damage triggers reprogramming of differentiated cells into stem cells in *Physcomitrella*. *Nat Plants* 6, 1098-1105 (2020)
15. *[Yamamoto T](#), [Yamazaki T](#), Hirose T. Phase separation driven by production of architectural RNA transcripts. *Soft Matter* 16, 492 (2020)
16. Espinas NA, Tu LN, Furci L, Shimajiri Y, Harukawa Y, Miura S, Takuno S, *[Saze H](#). Transcriptional regulation of genes bearing intronic heterochromatin in the rice genome. *PLoS Genet* 16, e1008637 (2020)
17. Enomoto T, (他 11 名) *[Hirota J](#). Bcl11b controls odorant receptor class choice in mice. *Commun Biol* 2, 296 (2019)
18. Ashwin SS, Nozaki T, [Maeshima K](#), *[Sasai M](#). Organization of fast and slow chromatin revealed by single-nucleosome dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA* 116, 19939-19944. (2019)

【主な学会発表(国際会議招待講演)、計画研究】 国際会議招待講 合計 59 件、学会発表計 469 件

- [Ochiai H](#). Revealing regulatory mechanisms of transcriptional dynamics by single-gene imaging system. *Single Molecule & Chromatin meeting 2022*. Sydney, Australia. 2022.11.15
- [Saitoh N](#), Ichikawa Y, Fukuoka M. Non-coding RNAs in the molecular condensate contribute to chromatin regulation and tumor dormancy in late recurrence of breast cancer. *The FASEB Meeting “The Nuclear Bodies Conference: Hubs of Genomic Activity”*. Nova Scotia, Canada. 2022.7.24-28.
- [Kimura H](#). Histone modification dynamics during transcription activation in living cells and embryos. *Gordon Research Conference “Chromatin Structure and Function: Chromatin Modifications, RNA and Metabolism”*. Castelldefels, Spain. 2022.5.29-6.3
- [Kurumizaka H](#). Structural insights into chromatin dynamics during gene expression. *Cold Spring Harbor Laboratory “Epigenetics & Chromatin” Meeting*. NY, USA. 2022.9.23
- [Kimura A](#). Quantification and modeling of chromatin dynamics inside the living cell. *9th World Congress of Biomechanics 2022*. Taipei, Taiwan. (Hybrid) 2022.7.11
- [Shinkai Y](#). Coordinate regulation of heterochromatin organization by H3K9 and H3K27 methylation pathways. *2022 International Symposium of the Epigenome Dynamics Control Research Center*. Seoul, Korea. (Online) 2022.2.11
- [Sakaue T](#). Chromatin mobility controlled by chromatin concentration. *2nd workshop on stochasticity and fluctuations in small systems*. (Online) 2020.11.25-27
- [Haraguchi T](#). Dynamic behavior of exogenous circular DNA introduced into the cells by transfection. *Circular DNA in normal development and disease*. Berlin, Germany, 2020.1.30-2.1
- [Nakayama J](#). Crosstalk between histone modifications during heterochromatin assembly. *The 4th Shanghai International Workshop of Epigenetics in Development and Disease/The 13th Annual Meeting of Asian Epigenome Alliance*. Shanghai, China, 2018.9.20
- [Ohkawa Y](#). Chromatin integration labelling Technology for expanding multi-omics. *EMBO Symposia: Multi-Omics*. Barcelona, Spain, 2019.9.13
- [Hiraoka Y](#). Chromosome-associated noncoding RNA promotes homologous chromosome pairing during meiosis. *EMBL Symposium: Principles of Chromosome Structure & Function*. Germany, 2018.9.5-8

【主な学会発表(国際会議招待講演)、公募研究】 国際会議招待講 合計 44 件、学会発表合計 208 件

- [Kawaguchi K](#). Graph-based machine learning and statistical physics for tissue homeostasis. *2021 NCTS Physics in Complex Systems Workshop*. Taiwan (Online) 2021.10.16

- Kengaku M. Cytoskeletal forces driving neuronal migration in 3D brain tissues. *International Symposium on Development and Plasticity of Neural Systems*. Kyoto, Japan. 2022.3.15
- Sasai M. Stochastic dynamics of transcription and chromatin movement. *Statistical Biological Physics: From single molecule to cell*. (Online) 2020.12.8
- Maeshima K. Chromosome Organization in Living Human Cells Revealed by Single Nucleosome Imaging. *Telluride Workshop on Physical Genomics and Transcriptional Engineering*. Colorado, USA, 2020.2.24
- Iwasaki YW. Piwi-piRNA silencing-coupled changes of nuclear architecture in *Drosophila*. *Chromosome Dynamics 2019*. Basel, Switzerland, 2019.12.8-10
- Taguchi YH. Application of tensor decomposition based unsupervised feature extraction to multi-omics data set. *BioInfOMICS2019*. Cayo Santa María, Cuba, 2019.10.24-17

【書籍、計画研究】

- 木村宏：特集 クロマチンによる転写制御機構の最前線（企画）『生体の科学』Vol.74, No.3 (2023.6)
中山潤一：『動き始めたゲノム編集：食・医療・生殖の未来はどう変わる？』ネッサ・キャリア著、中山潤一訳、丸善出版（2020）
木村暁：『細胞建築学入門』工学社(2019)
胡桃坂仁志：「あなたのタンパク質精製、大丈夫ですか？ 貴重なサンプルをロスしないための達人の技」、羊土社（2018）、実験医学増刊『教科書を書き換えろ！染色体の新常識』羊土社（2018）

【書籍、公募研究】

- 鈴木淳史：『ダイレクトプログラミング：再生医療の新展開』鈴木編著、エヌ・ティー・エス（2020）
田口善弘：『生命はデジタルでできている 情報から見た新しい生命像』（ブルーバックス）、講談社（2020）

【産業財産権、計画研究】

- 大川恭行、他：国際出願番号 PCT/JP2022/026162 「プローブ、プローブセット、及び哺乳動物の核酸検出キット」国立大学法人九州大学、国際出願日 2022.6.30、他 4 件
斉藤典子、他：国際出願番号 PCT/JP2023/14616 号 「ER 陽性乳がんの晩期再発の検査を支援する方法、及び治療薬のスクリーニング方法」公益財団法人がん研究会、出願日 2023.4.10、他 3 件
平岡泰、原口徳子、他：特願第 2020-000088 「2 種類の TBK1/IKKε 阻害剤を利用した核酸導入」国立大学法人大阪大学、国立研究開発法人情報通信研究機構 公開番号 2023015419、公開日 2023.1.2、他 1 件
原口徳子、他：特許第 6607486 号 「細胞内膜構造形成方法および細胞内膜構造観察方法」情報通信研究機構、特許番号 6607486、登録日 2019.11.1

【産業財産権、公募研究】

- 早野元詞、他：特願 2022-094237 「光刺激によるパーキンソン病の治療方法及びそれに用いる装置」学校法人順天堂、株式会社坪田ラボ、住友ファーマ株式会社、出願日 2022.6.10、他 7 件
新海陽一、他：特願 2021-130888 「アクチン構造の検出方法」出願日 2021.8.10
藤芳暁、他：出願番号：2020-041367 「顕微鏡」東京工業大学、出願 2020.3.11
宮本圭、他：特願 2019-199517 「バイオマーカーを用いた哺乳動物胚の選別方法」学校法人近畿大学、出願 2019.11.1、他 1 件

【ホームページ】

- 領域ホームページ：<http://www.nibb.ac.jp/potential/>（2018年7月立ち上げ）
 領域 twitter：https://twitter.com/CP_Publicity（2018年7月開始、2023年6月現在 355 フォロワー）

【主な主催シンポジウム、計画研究】

- 平谷伊智朗、木村暁：「第 40 回染色体ワークショップ・第 21 回核ダイナミクス研究会」2022.12.20-21
胡桃坂仁志、木村宏：「Japan UK Regulation through Chromatin Conference 2022」2022.8.22-23
岡田由紀、平谷伊智朗、斉藤典子、木村宏：「International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology 2022 & EMBO Laboratory Leadership Training Course」2022.12.3, 5
大川恭行、木村宏、斉藤典子：「The 30th Hot Spring Harbor International Symposium, Chromatin Potential in Development and Differentiation」2022.1.19
中山潤一、前島一博：「遺伝研研究会、クロマチン・細胞核の形成とダイナミクスによるゲノム制御」2019.10.17-18
斉藤典子、岡田由紀、平谷伊智朗：「International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology 2019 & EMBO Laboratory Leadership Training Course」2019.6.23

【主な主催シンポジウム、公募研究】

- 寺川剛、山本哲也：「第 1-4 回 ゲノム生物物理学セミナー」2023.3.6、2022.8.29、2022.3.8、「第 1 回ゲノム生物物理学セミナー」2021.8.20
岩崎由香：「Tokyo RNA Club The 26th Meeting」2019.12.6、「RNA フロンティアミーティング 2019」2019.9.24-26

【主なアウトリーチ活動】

- 小・中・高校生を対象とした授業・実験・実習：計画研究 54 件、公募研究 33 件；サイエンスカフェ、その他の科学イベント参加・出展：計画研究 14 件、公募研究 29 件；メディア報道 273 件

8 研究組織の連携体制

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

【研究組織】領域代表者を中心として、全体がひとつの目標に向かって連携研究を進めていく体制とするため、研究項目は A01 ひとつとした (図 14)。A01 は、8 件の計画研究課題と 45 件の公募研究課題 (うち廃止 7 件を含む) から成る。計画研究は、領域代表者を中心として、クロマチン構造を「分子レベル」、「細胞レベル」、「胚・個体レベル」と異なる階層で研究する研究課題から成る。公募研究は、計画研究では扱わない生命現象や解析技術を含む研究を採択した。研究活動を支援するものとして、総括班 (X00) の中に、「先端イメージング支援班」、「少数エピゲノム支援班」、「国際活動支援班」を設置した。

【計画研究と公募研究の連携体制】

研究交流による連携の強化：領域会議やサイトビジット等により研究交流を促進した。2 年目には、公募研究が加わり、領域会議、小規模研究会やサイトビジットを実施した結果、共同研究の数が、H30 年度-20 件、R1 年度-41 件へと増加した。R2 年度から R4 年度は、新型コロナウイルス感染拡大の影響でサイトビジットなどが制限されたため、対面での交流は出来なかったが、オンラインによる交流を継続した。その成果として、最終的な共同研究数は全体を通して 100 件に達した。それにより、80 報の領域内共同研究論文 (査読有) を発表した。

実測研究と理論研究の連携：本領域では、特に実測研究と理論研究の融合を重視した。木村暁と坂上、河野 (胡桃坂計画分担) が理論研究を行うのに加えて、公募研究として、前期は 4 件 (川口、笹井、山本、田口)、後期は 3 件 (原、笹井、山本) の理論研究が加わり、領域内で連携研究を行った。

高度技術 (公募研究) と計画研究との連携：高速原子間力顕微鏡 (柴田) やクライオ蛍光顕微鏡 (藤芳)、ヌクレオソームのケミカルマッピング (加藤)、DNA カーテン法 (寺川)、3 次元 STED-FCS (毛利) などの独自の高度な技術を持つ公募研究は、計画研究と連携して研究を進めてきた。

計画研究が扱わない生命現象を対象とする公募研究との連携：計画研究を補完するものとして、植物 (玉田、佐瀬)、脳発生・ニューロン分化 (見学、岸)、記憶 (今野)、ヒト精子 (岡田)、個体老化 (鈴木、早野)、テロメア (加納)、短鎖 RNA (岩崎) などの研究課題が採択され、連携して研究を進めている。

【支援班活動による連携体制】

総括班による支援活動として、「先端イメージング支援班」と「少数エピゲノム解析支援班」の技術支援を設けており、これらの活動を通じた領域内連携も形成されている。先端イメージング支援班では、伊藤を中心に 1 分子蛍光イメージングや解析手法を提供し、これまでに木村宏、小布施、斉藤、正井公募研究らと共同研究を行った。少数エピゲノム解析支援班では、平谷は、1 細胞全ゲノム DNA 複製解析法 (scRepli-seq) や Hi-C の技術提供による共同研究を眞貝、斉藤、小布施、正井公募研究、川口公募研究らと行っている。また、解析法に関する情報交換を笹井公募研究、岸公募研究、田口公募研究らに行った。大川は、ChIL-seq 法等の高難度のエピゲノム解析に関する共同研究や技術支援を、斉藤、落合、胡桃坂、平岡、岡田公募研究、加藤公募研究、今野公募研究、鈴木公募研究らに対して行った。「国際活動支援班」では、木村宏と胡桃坂が領域内連携体制も考慮しつつ国際活動を進めた。2019 年 3 月開催予定の国際シンポジウムは新型コロナウイルス感染拡大に伴い中止となったが、木村宏と胡桃坂が中心となり 2020 年に開催を企画した英国レスター大学での国際会議は 2 度の延期を経て、2022 年 8 月に Japan-UK Regulation through Chromatin Conference 2022 として開催し、領域研究成果の発信を行うとともに、内外研究者との連携を強めた。

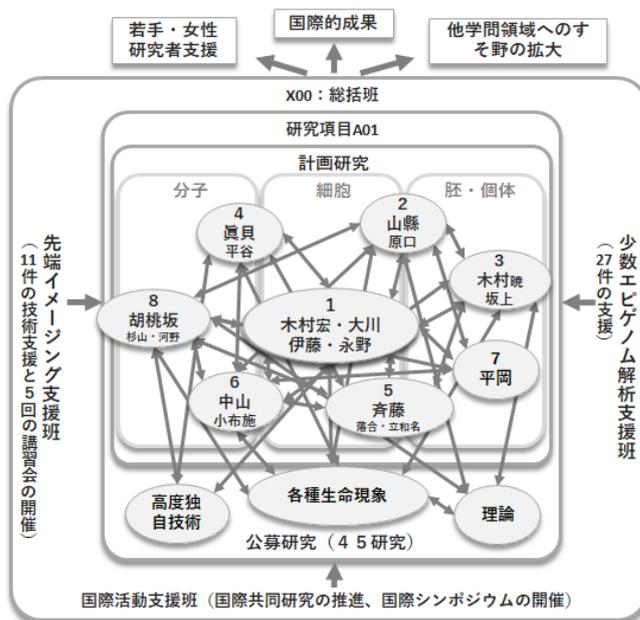


図 14: 研究組織と連携体制

9 研究費の使用状況

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。また、領域設定期間最終年度の繰越しが承認された計画研究（総括班・国際活動支援班を含む。）がある場合は、その内容を記述すること。

設備等の活用状況

本研究領域では、共用設備は設けず、各研究者が購入した設備・装置を共用化し、また、実験資料・資材を互いに提供し合うことで、最先端技術や材料の共有を行い、領域全体の研究を推進している。

イメージング関連設備：クロマチンポテンシャル研究の鍵となる生細胞定量計測を推進するため、H30年度に、それぞれ異なるモデル生物を用いた生細胞イメージングを行う研究拠点に顕微鏡システムやカメラを導入した。東京工業大学（木村宏）にスピニングディスク型共焦点顕微鏡（Andor、2,100万円）を設置し、ゼブラフィッシュや培養細胞を用いたヒストン修飾の生細胞イメージング解析を推進した。また、大川、藤芳公募研究課題らとの共同研究にも使用している。近畿大学（山縣）に共焦点超解像顕微鏡システム CSU-W1 SoRa-SP1（横河電機、2,500万円）を設置したことにより、細胞毒性が低い状態でマウス初期胚のクロマチンの動きの高分解能計測が可能となった。原口との細胞核再構成に関する共同研究にも用いている。国立遺伝学研究所（木村暁）に特注の装置として二光子励起スピニングディスク共焦点顕微鏡システム（横河電機、1,920万円）を導入し、線虫のクロマチン動態解析を推進した。大阪大学（平岡）に既存の CCD カメラより高感度の sCMOS カメラ（GE ヘルスケア、815万円）を導入し、分裂酵母の生細胞蛍光画像を高感度で取得することができるようになった。

タンパク質精製、計測関連設備：クロマチンポテンシャルの実体となるクロマチン構造やクロマチン因子の解析には、再構成系が必要であるため、H30年度にタンパク質精製と生化学解析を行う研究拠点（基礎生物学研究所・中山、大阪大学・小布施、東京大学・胡桃坂）にタンパク質精製装置（GE ヘルスケア、580、430、686万円）を導入した。これにより、ヘテロクロマチン関連タンパク質やヒストンの大量精製が進み、機能解析が進展している。東京大学（胡桃坂）には、さらにゲル撮影装置（GE ヘルスケア・620万円）を設置することで再構成ヌクレオソームの品質評価を行い、杉山、柴田公募研究らとの共同研究にも供している。また、京都大学（杉山）に、質量分析機器（700万円）を導入することで溶液散乱解析の高度化を行い、構造解析が進展した。

研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫

上記のように、初年度に必要な備品を設置することで、研究基盤を整備した。2年目以降は、各計画研究・公募研究の研究内容に応じて、実験に必要な消耗品【物品費】や【人件費】に主に研究費を使用した。本領域では、ポスドク（H30年度6名、R1年度12名、R2年度15名、R3年度12名、R4年度17名）、RA（H30年度4名、R1年度6名、R2年度10名、R3年度9名、R4年度12名）、技術支援員、事務支援員を雇用したが、これは研究の推進と領域内連携に大きく貢献した。研究打ち合わせ、研究成果の発表と情報収集などのための国内外学会への参加、領域会議への参加にかかる費用を【旅費】として支出し、領域内連携や領域の成果の発表に努めた。【その他】としては、論文の英文校閲費、論文掲載費用、学会参加登録費などに使用した。以上により、領域の研究と成果の公表は順調に進んだ。

総括班による研究情報の共有・発信と国際活動支援

研究情報の共有・発信：領域の活動を広く社会に発信するために、領域ホームページを開設・維持した（H30年度、27万円；R1-R4年度、年度あたり10万円）。また、領域内で情報の共有と連携を推進するために、領域会議や小規模ミーティングを開催した（H30年度15万円；R1年度84万円、R4年度30万円）。若手育成のために、若手ワークショップや勉強会を行ったほか、技術講習会、研究会、学会ワークショップ等を支援した（H30年度、54万円；R1年度160万円、R2年度31万円、R3年度10万円、R4年度74万円）。新学術領域「全能性プログラム」、学術変革領域 A「ゲノムモダリティ」と合同で若手の会を開催した（R4年度136万円）。

国際活動支援：国際的な連携をはかるために、3R&3C meeting（H30年度、94万円）、Hot Spring Harbor Symposium（R3年度31万円）、Japan-UK Regulation through Chromatin Conference 2022（R4年度、200万円）を共催した。EMBO Leadership Course を支援した（R4年度92万円）。4Dヌクレオームに関連する海外研究者との研究打ち合わせ、意見交換を行った（H30年度、32万円）。

10 当該学問分野及び関連学問分野への貢献の状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の成果が当該学問分野や関連学問分野に与えたインパクトや波及効果などについて、「革新的・創造的な学術研究の発展」の観点から、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、応募時に「①既存の学問分野の枠に収まらない新興・融合領域の創成を目指すもの」、「②当該領域の各分野発展・飛躍的な展開を目指すもの」のどちらを選択したか、また、どの程度達成できたかを明確にすること。

応募時の選択：「②当該領域の各分野発展・飛躍的な展開を目指すもの」

【関連学問分野に対するインパクト・波及効果】

1細胞解析技術が拓くシングルセル生物学の創出がもたらす展開：木村宏が開発した生細胞翻訳後修飾イメージング技術（FabLEM法、Mintbody法）により、特定のヒストン修飾や転写中のRNAポリメラーゼIIの動態が可視化できるようになった。特に、本領域として新たに開発したSer2phとSer5phに特異的なMintbody（遺伝子として発現させることが可能）は、それぞれ転写開始反応と伸長反応を区別して可視化できる。これを目的の生物で発現させると、1個体の個々の細胞での転写変動を調べることが可能となる。また、1細胞解析技術として、木村宏と大川が開発したChIL技術（目的ゲノム領域のヒストン修飾が分かる）やMulti-ChIL技術（複数のヒストン修飾状態の解析が可能）により修飾部位・タンパク質結合部位の網羅的解析が可能となった。平谷が開発したscRepli-seq技術（全ゲノムDNA複製解析法）によりクロマチンコンパートメントの指標となる複製タイミングの解析が、それぞれ可能となった。さらに、これらの技術を発展させ、RNA発現情報との同時解析する技術（ChIL-seq 2.0）や、1個の細胞の“転写状態”と“エピゲノム状態”の両者を調べること（scmtChIL-seq）が可能になった。このような解析は、個々の細胞がどのような運命を辿ってきたか、その運命と全ゲノム動態とを同時に明らかにできるため、「シングルセル生物学」分野にも新たな展開をもたらすことができる。さらに、幹細胞の分化過程やがん細胞の悪性化前後での状態を分析できるなど、医学的な技術革新への展開も視野に入る段階となっている。

独自技術を活かした新しいクロマチン解析法の開発：本領域が発足した当時は、ゲノム編集、エピジェネティクス編集技術、ゲノム合成（Genome-write）が発展してきた時期であるが、この5年間にこれらの技術はさらに進化した。本領域においても、落合や平谷がゲノム編集を駆使した研究を進め、さらに現在では、CRISPR-Cas9ライブラリを用いた因子のスクリーニングによりクロマチン構造を制御する因子の同定にも成功している（未発表）。現在、これらの因子のクロマチン構造（クロマチンポテンシャル）制御における機能を明らかにしているところである。また、本領域の特徴の一つは、独自の再構成系を構築して機能解析に活かしている点である。試験管内のクロマチン再構成系においては、胡桃坂は、ヌクレオソームとクロマチンタンパク質の複合体やポリヌクレオソーム構造の再構成に成功し、クライオ電顕、溶液散乱（杉山）、分子動力学解析（河野）などを駆使してその動的構造まで明らかにしてきた。また、山縣と原口は、DNAビーズや長鎖DNAを用いて人工核を再構成する系を構築し、DNAだけでヘテロクロマチン形成や核小体様の構造が形成されることを発見している（未発表）。

クロマチンポテンシャルの分子機構の解明：ヘテロクロマチン（眞貝、中山、小布施）やRNAボディ（斉藤、平岡、山崎公募代表、山本公募代表）、核小体（斉藤）、核膜（平岡）などの核内構造体の生成やクロマチン機能の機構に関する研究も大きく進展した。これらの研究は、RNAボディが液相分離で形成されるとの記述に留まらず、そのクロマチンポテンシャル制御に関する意義やメカニズムについても迫るものである。RNAボディ（エレノア）の（異常な）存在やヘテロクロマチン形成因子（HP1やHBiX2など）の変異が、再発乳がん、筋ジストロフィー、下垂体ホルモン欠損症、発達障害・自閉症など、様々な病気の原因になることも明らかになってきた。本領域ではこれらの因子の機能ドメイン解析や機能メカニズム解明を目指したが、本領域で達成した成果は、今後、病気の早期発見や治療に道が拓くものとなると確信している。

これらの研究により、クロマチンポテンシャルを制御する因子の実体と転写制御への寄与について明らかにすることができれば、クロマチン構造改変を介した遺伝子制御により細胞機能を自在に操ることに近づくことができる。

11 若手研究者の育成に関する取組実績

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（令和5年3月末現在で39歳以下。研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組の実績について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本領域では、若手研究会や若手向けの技術講習会等の開催を行い、また、若手研究者を多く雇用して論文発表や学会発表を主導するなど、若手研究者の育成に取り組んできた。また、若手同士が直接議論し意見交換できるような場を多く設け、互いに切磋琢磨できるような環境の熟成に尽力した。

【若手研究会の開催】

・第1回クロマチン潜在能ワークショップ：2019年6月20～22日に愛知県蒲郡市ホテル竹島にて第2回領域会議と同時に開催。大学院生や博士研究員など若手研究者を中心に37演題の研究発表。

・近畿大学×クロマチン潜在能～若手の会シンポジウム～：2019年10月1～2日に、近畿大学生物理工学部にて、山縣研究室の学生らにより主催された。当領域からは山縣に加え胡桃坂と宮本公募研究が参加し、大学院生7名が最新の研究成果を発表した。

・新学術・学術変革領域合同 若手の会 2022：2022年10月30日～11月2日に、「クロマチン潜在能」「全能性プログラム」「ゲノムモダリティ」3領域合同の若手研究会を、関空近くのSORA RINKUにて開催。院生から独立したての若手PIまで、約120名が参加し、口頭発表（48題）とポスター発表（38題）を行い、熱い議論を闘わせた（図15）。ニュースレター（20号）で紹介。



図15: 新学術・学術変革領域合同若手の会2022の様子

【技術講習会の開催】

若手研究者のイメージング技術修得を目的として、蛍光顕微鏡の実機講習会（「細胞生物学ワークショップ 蛍光顕微鏡トレーニングコース1-初級から中級-」、平岡、原口主催、5日間×5回）を実施した。全国から選抜した院生と若手研究者、約40～50名/回が参加。木村宏、山縣、伊藤が講師として参加。詳細は、ニュースレター（1号、7号、12号、15号、19号）で紹介。

【サイトビジットによる研究交流】

共同研究打合せにポスドク・院生を同行し、若手研究者が直接意見交換を行う機会を設けた。山縣+若手4名が木村宏研究室を訪問（2日間）（図16）、小布施+若手1名が斉藤研究室を訪問（4日間）、山縣+若手3名が原口研究室を訪問（1日）、坂上+学生・大学院生5名が木村暁研究室を訪問（2日間）など、領域内で100件以上のサイトビジットを行った。



図16: サイトビジットでの若手の発表と議論の様子

【オンラインによる研究交流】

コロナウイルス禍で研究室での活動が制限された学生たち向けに、領域メンバーが他メンバーのオンライン研究室セミナーに参加し、自身の研究や論文紹介を題材に議論を行うという研究交流を行った。また、領域内研究者の対面式交流が制限されたのを補足する目的で、月に一度の割合で、オンラインによるセミナー（pitch seminar）を実施した。開催数は計17回になる。話題提供者は1回に2人とし、計画研究や公募研究、その研究室の若手が話題提供した。毎回約100名が参加し、非常に活発な議論が行われた。新たな共同研究の開始や展開に繋がるなど、有意義な研究交流ができた。

12 総括班評価者による評価

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

【評価体制】

本領域では総括班評価者として関連分野で傑出した経験と実績を持つ学際的研究者である4名の国内研究者、2名の海外研究者を迎えて評価と助言を頂く体制を整えた。

氏名	所属・職	専門分野
米田 悦啓	医薬基盤研・理事長	細胞生物学・医学・創薬
徳永 万喜洋	東工大・教授	生物物理学
白髭 克彦	東大・教授	ゲノム科学
田代 聡	広島大・教授	染色体遺伝学・放射線医学
Peter Fraser	米・フロリダ州立大学・教授	分子生物学
Maria Elena Torres-Padilla	独・ヘルムホルツ研究所・部門長	発生生物学

国内評価者の方々には、毎年、領域会議に参加して頂き、評価と助言を頂いた。海外評価者の方には、オンライン会議あるいは海外での学会・研究会の際に総括班構成員から成果報告を行い、評価と助言を受けた（ただし、Peter Frase 教授とは面談の機会が得られなかった）。

【本領域に対する評価コメント】

研究領域の方向性に対する評価

- **米田**：「クロマチン潜在能」というコンセプトはとても良い。例えば脳科学者ならば、人の脳の潜在能力がどうなっていて、どう引出されるかを理解したいだろう。同様に、クロマチンがどのような潜在能力を有していて、それがどう引出されるかを理解することは、生物学としてとても重要である。（領域会議では）最先端の様々な成果を聞かせてもらった。「ヘテロクロマチンとユークロマチン」と言う古典的な概念の再考を促すような新しい展開も見えてきて、とても面白い。
- **徳永**：英国のフランシス・クリック研究所が異分野融合などにおいて素晴らしい取り組みをしていると感じているが、本領域は予算の規模や体制こそ違うが、そのような世界の最先端の研究所・潮流と伍して、遺伝子制御分野では戦えると思わせてくれるような研究展開を示している。
- **田代**：世界的な研究の動向を見ても、クロマチンや核の時空間的ダイナミクスを研究する「4Dヌクレオーム」と銘打った研究が近年進んでおり、さらに各所でその次のステップの生物学が模索されている。本領域は、それを先取りする方向性で世界的にも重要な領域になっている。本領域は、生物学を中心に、化学、物理、数学の諸分野を効果的に取り込んで進展している。特に、数理的アプローチをとる研究者の参入が、新しい方向性を生んでいるのが素晴らしい。
- **Torres-Padilla**：Live imaging technologies developed in this research group is superior. I hope that the imaging technology will elucidate the mechanism of gene expression regulation during development.（本領域で開発された胚発生の生きたまま観察できるライブイメージング技術は非常に優れている。このイメージング技術を活かして、開発時の遺伝子発現制御の仕組みが解明されることを期待している。）

研究成果について

- **米田**：「クロマチン潜在能」というコンセプトに基づいて、十分な成果が得られている。個々の成果がクロマチン潜在能をどのように明らかにしたかを整理して、研究分野の発展に活かしてほしい。
- **徳永**：様々な分野の技術を活用し、新しいことがどんどんわかってきている。全体として新たな生物学の発展方向が見えてきた。
- **白髭**：質・量ともに十分な成果が出ている。「良い成果」というのは、様々な観点があるが、10年、20年後に評価される研究だと思う。引き続きそのような研究を続けて貰いたい。
- **田代**：新しい計測技術を開発し、それを有効に活用している点が特に興味深い。
- **Torres-Padilla**：ChIL-seq, a genome-wide analysis developed by Drs. Kimura and Ohkawa, is useful for investigating the relationship between chromatin state and transcription, and has made a very important contribution to this field. Our group actually employed ChIL-seq technology for low-input epigenome profiling

in mouse embryos and nice data were obtained. (木村と大川が開発したゲノムワイド解析 ChiL-seq はクロマチン状態と転写の関係を調べるのに有用であり、この分野に非常に重要な貢献をした。実際、我々の研究室でもマウス胚を用いた少数細胞エピゲノム解析に ChIL-seq を用いて良好な結果が得られている。)

研究組織 (連携・若手育成) について

- **徳永**: 領域代表を中心に、経験豊富な研究者がサポートしながら、全体としてとても良いチームとなっていて、共同研究や領域運営を進めているのが素晴らしい。扱う生物種や着目する現象、アプローチなどにおいてバラエティに富んでいる。これはクロマチン関連の領域の良い伝統となっていて、本領域でもそのような多様性が尊重されている。質疑応答の際の質問者の顔ぶれに新しい顔が多く、この分野における活発な新陳代謝を感じる。公募研究代表者に勢いある若手が多い。これらのメンバーが今後の研究分野の発展で中核となり、活発な共同研究を行うチームづくりを期待したい。
- **田代**: 共同研究が大いに進んでいることを評価する。若手研究者が多く領域会議に参加しているのが良い。理論・モデリング研究など分野の多様性を感じる。分野融合的な研究を一人で行うには能力的にも限界があるが、若い研究者が本領域の枠組みをうまく使い、ディスカッションや共同研究により相乗効果が生まれている。若手育成という観点からも本領域は良い環境を提供している。
- **米田**: この領域の特徴として、参加している個々の研究者の方々がいかにこの領域を盛り上げるかを考えている様子がひしひしと伝わってくることもある。とても良い。
- **白髭**: 30~40代の研究者も研究代表として多く参加しているが、研究の活力が高まっているこの年代に思う存分研究を展開してもらいたい。本領域はその環境を作ることに成功している。
- **Torres-Padilla**: It is a pity that the international symposium planned in 2019 was cancelled due to COVID-19 pandemic. The chromatin potential team appears to be well organized by Kimura's leadership. (2019年に予定されていた国際シンポジウムがコロナ禍でキャンセルになったのは残念である。クロマチンポテンシャルチームは木村のリーダーシップによりよく組織化されている。)

総括班の活動

- **米田**: 領域代表のリーダーシップのもと、よくまとまった運営をしている。
- **徳永**: 先端イメージング支援班、少数細胞エピゲノム支援班、国際支援班、はそれぞれ重要な役割を担っており、効果的に機能している。
- **白髭**: 領域代表が適材適所に担当を配置していて、先端イメージング支援、少数細胞エピゲノム支援、国際活動支援など、領域としての様々な仕掛けがしてあり、効果的に分野の発展が促されている。

研究費の使用

- **白髭**: 妥当と思う。引き続き、領域代表が領域全体の研究状況や世界の動向を見定めて、領域全体で効率的・効果的な研究費の活用が進むことを期待する。研究機器が高額化する現状において、十分な研究予算を確保するのは難しい局面があるが、アイデアで補って領域を盛り上げてもらいたい。

今後の研究領域の発展性について

- **田代**: 本領域では生物系研究者と、数理などの理論系研究者がうまく融合しているのが特徴的だ。これは次のステップの生物学に必要な方向性であり、この融合をさらに推し進めてほしい。
- **米田**: 私は「がん」や「老化」研究のプロジェクトにも関わっており、評価することも多い。その経験でも、このクロマチンの分野がこれからのサイエンスの基盤になっていくことは間違いない。この領域の研究者が、医学などの研究に直接的に参画する必要はないが、医学など応用分野につながる基盤となる基礎研究を展開してほしい。将来的に「あの研究領域から生まれた研究成果が源流となって、がんのこの部分がわかりました」となるような基礎研究を強く期待する。今後のサイエンスの基盤となる研究を行う領域であることを自負し取り組んでいただきたい。
- **徳永**: この素晴らしいチームで「クロマチン潜在能」の概念を明確にしてほしい。
- **米田**: (新型コロナウイルスの流行を目の当たりにし) 最近はウイルスについてどうしても関心がいってしまうが、ウイルスが細胞の能力をハイジャックするにあたり、ヘテロクロマチンの領域に潜伏する可能性など、様々な分野にクロマチンの研究はつながっていく。将来的に領域の成果がそういった分野にも発展していくことを期待している。