

領域略称名：全能性プログラム
領域番号：7102

令和3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）」
に係る中間評価報告書

「全能性プログラム：デコーディングからデザインへ」

領域設定期間

令和元年度～令和5年度

令和3年6月

領域代表者 国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・

室長・小倉淳郎

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	研究領域の目的及び概要	5
4	審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	7
5	研究の進展状況及び主な成果	9
6	研究発表の状況	14
7	研究組織の連携体制	19
8	若手研究者の育成に関する取組状況	20
9	研究費の使用状況・計画	21
10	今後の研究領域の推進方策	22
11	総括班評価者による評価	24

研究組織

(令和3年6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	19H05749 新学術領域「全能性」の総括班活動	令和元年度 ～ 令和5年度	小倉 淳郎	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・室長	3
A01 計	19H05750 受精卵全能性を統御する遺伝子群の単離と機能解析	令和元年度 ～ 令和5年度	伊川 正人	大阪大学・微生物病研究所・教授	2
A01 計	19H05751 全能性細胞の核構築原理	令和元年度 ～ 令和5年度	宮本 圭	近畿大学・生物理工学部・准教授	2
A01 計	19H05752 全能期における遺伝子発現プログラムの調節機構の解明	令和元年度 ～ 令和5年度	青木 不学	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授	1
A01 計	19H05753 転移因子と初期胚の相互作用解析を通じた全能性プログラムの解明	令和元年度 ～ 令和5年度	塩見 春彦	慶應義塾大学・医学部・教授	1
A01 計	19H05754 全能性消失時のエピゲノム制御機構の解明	令和元年度 ～ 令和5年度	井上 梓	国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・上級研究員	2
A02 計	19H05755 核の再プログラム化の in vitro 再構成	令和元年度 ～ 令和5年度	新富 圭史	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・専任研究員	1
A02 計	19H05756 全能性プログラムにおけるエピゲノム再編成の理解とその人為的制御	令和元年度 ～ 令和5年度	石内 崇士	九州大学・生体防御学研究所・助教	1
A02 計	19H05757 着床前胚に由来する幹細胞を用いた全能性の再構築	令和元年度 ～ 令和5年度	岡江 寛明	東北大学・医科系研究科・准教授	2
A02 計	19H05758 マウス核移植技術の開発による正常クローン胚・胎盤の構築	令和元年度 ～ 令和5年度	小倉 淳郎	国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・室長	2
A02 計	19H05759 非ヒト霊長類における全能性獲得と初期胚発生の理解	令和元年度 ～ 令和5年度	佐々木 えりか	公益財団法人実験動物中央研究所・マーモセット医学生物学研究部・部長	1
総括班・総括班以外の計画研究 計 11 件 (廃止を含む)					

[1] 総：総括班、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	20H05356 核内クロマチン密度に着目した全能性獲得の場としての核構造解析	令和2年度 ～ 令和3年度	大杉 美穂	東京大学・大学院総合文化研究科・教授	1
A01 公	20H05357 全能性消失時のゲノム構造変化に連動した転写制御機構の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	深谷 雄志	東京大学・定量生命科学研究所・講師	1
A01 公	20H05358 植物胚発生における胚性再獲得と全能性消失機構の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	栗原 大輔	名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・特任講師	1
A01 公	20H05359 非ヒト霊長類の胚盤胞における内部細胞塊と栄養膜細胞の分化運命の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	依馬 正次	滋賀医科大学・動物生命科学研究所・教授	1
A01 公	20H05364 全能性獲得における母性 H3K9 脱メチル化酵素の機能解析	令和2年度 ～ 令和3年度	黒木 俊介	大阪大学・生命機能研究科・准教授	1
A01 公	20H05366 受精後の精子尾部が与える全能性への影響の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	橋本 昌和	大阪大学・生命機能研究科・准教授	1
A01 公	20H05367 全能性をもたらす卵賦活化による母性 mRNA 翻訳調節機構の解析	令和2年度 ～ 令和3年度	原 昌稔	大阪大学・生命機能研究科・助教	1
A01 公	20H05368 全能性獲得機構の解明のための multi-omics 技術の開発	令和2年度 ～ 令和3年度	原田 哲仁	九州大学・生体防御医学研究所・准教授	1
A01 公	20H05369 マウス受精卵における全能性細胞の最初期の分化メカニズムの解明	令和2年度 ～ 令和3年度	高岡 勝吉	徳島大学・先端酵素学研究所・准教授	1
A01 公	20H05370 精子幹細胞でプライミングされるヒストン修飾の次世代全能性プログラムへの影響	令和2年度 ～ 令和3年度	大保 和之	横浜市立大学・医学研究科・教授	1
A01 公	20H05374 真の全能性細胞の同定による全能性獲得と消失の分子基盤の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	中村 肇伸	長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・教授	1
A01 公	20H05375 DUX に依存しない胚性ゲノム活性化による全能性獲得機構の解明	令和2年度 ～ 令和3年度	関 由行	関西学院大学・生命環境学部・教授	1

A01 公	20H05376 核サイズに制御された全能性獲得 メカニズムの解明	令和2年度 ～ 令和3年度	京極 博久	神戸大学・農学研究科・助教	1
A01 公	20H05365 小型魚類イメージングを用いた全 能性保証システムの解析	令和2年度 ～ 令和3年度	石谷 太	大阪大学・微生物病研究所・教授	1
A01 公	20H05360 未受精卵子が保証する全能性とそ のフラジリティー	令和2年度 ～ 令和3年度	本多 新	自治医科大学・医学部・教授	1
A02 公	20H05373 哺乳類胚における全能性の制御に 関わる亜鉛シグナルの機能解明	令和2年度 ～ 令和3年度	伊藤 潤哉	麻布大学・獣医学部・教授	1
A02 公	20H05362 初期発生軸に沿った幹細胞の増殖 分化プログラムと遺伝的安定性の 可塑性	令和2年度 ～ 令和3年度	中馬 新一郎	京都大学・ウイルス・再生 医科学研究所・准教授	1
A02 公	20H05372 (廃止) 母性因子の人工誘導による全能性 の再獲得	令和2年度 ～ 廃止時現在	中武 悠樹	慶應義塾大学・医学部・講 師	1
A02 公	20H05363 (廃止) マイクロRNAによる全能性・多 能性制御機構の解明	令和2年度 ～ 廃止時現在	齊藤 博英	京都大学・iPS細胞研究所・ 教授	1
A02 公	20H05361 (廃止) ヒト全能性を制御する機構の構築	令和2年度 ～ 廃止時現在	高島 康弘	京都大学・iPS細胞研究所・ 講師	1
公募研究 計 20 件 (廃止を含む)					

[1] 総：総括班、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 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。

研究領域の背景と目的

終末分化した生殖細胞である精子と卵子は、ゲノム再プログラム化を受け、受精卵へと変化する。このゲノム再プログラム化は、全ライフサイクルの中で最も大規模なゲノム状態の変化であり、この結果、受精卵のゲノムは胎盤を含めたあらゆる細胞・組織を形成する能力、すなわち「**全能性 (totipotency)**」を獲得する。この受精と全能性獲得による命の始まりは、生物学領域における最大の謎の一つである。たった1個の細胞である受精卵にどのようなプログラムが組み込まれているのか、別の細胞であった卵子と精子が一緒になるとなぜ完全な体が作られるのか。これらの謎は研究者だけでなく、一般社会の人にとっても大きな科学的な関心の一つであり、未開拓の研究分野である。一方で、この未解明に残されている「命の始まり」に対する人為的な操作は日々進行し、我が国でも毎年数万人が体外受精 (IVF) や顕微授精 (ICSI) 技術により生まれている。これらの技術が次世代の代謝や行動などの表現型へ影響が報告されているが、その科学的な解明は進んでいない。

受精に始まる新しい命は、受精卵・胚発生そして生殖細胞の発生・分化を経て、次の世代に受け渡される。この命の循環である生殖サイクルに関する研究は、我が国が世界をリードする分野の一つである。本領域の前身である特定領域研究および新学術領域研究でも、生殖サイクルとそのエピゲノム変化に関わる多数の重要な発見が次々と報告された。また、我が国の得意とする核移植クローンなどの高度な発生工学と最新の解析技術の組み合わせも、多くの独創的な成果を生み出す原動力となった。しかしながら、これらの領域において達成すべき重要なテーマであったにもかかわらず、進展が遅れたのが、全能性研究である。これは、当時の解析技術の限界が最大の原因であった。

このように、科学的・社会的に重要である全能性研究が生殖サイクルの中でブラックボックスとして残されていたが、近年の受精卵・初期胚のゲノム・エピゲノム解析技術の進展とそれに伴う優れた若手研究者の輩出により、絶好の機会が到来した。本研究領域では、この機会を逃さず、若手を含むベストの研究者メンバーを多様な領域から招集した。最終的な目標として、全能性のプログラムの理解と応用に踏み込んだ新たな学問領域の創出を打ち出した。

研究領域の全体構想

その目的のために本領域では、解析系の A01「全能性プログラムの解読 (デコーディング)」と応用系の A02「全能性の制御と構築 (デザイン)」の2研究項目を設定した。さらに時間軸に沿って「①全能性獲得」「②全能性の発揮」「③全能性消失」の3つのステージ分けを行なった (図1)。これら項目内および項目間の連携を強化し、公募班員も含めた各メンバーの総合力を結集させることにより、「全能性プログラム」の包括的な理解、そして将来の応用展開の基盤を構築する。

【A01 全能性プログラムの解読 (デコーディング)】「①全能性獲得」においては、CRISPR ノックアウトスクリーニングによって全能性獲得に関わる卵子 (母性) 因子を同定し、核内物理的特性解析を行なうことで、全能性獲得核 (前核) に特異的な形成メカニズムを解明する。「②全能性の発揮」においては、発生イベント依存のおよび転移因子依存の胚性遺伝子発現メカニズムを解明し、いかに全能性が発揮されるかを明らかにする。「③全能性の消失」においては、胚と胚体外への初期分化過程におけるエピゲノム動態を解明し、エピゲノム操作による全能性構築の技術基盤を作る。

【A02 全能性の制御と構築 (デザイン)】: A01 で解読する全能性プログラムを各ステージに対応させて制御技術を確認する。「①全能性獲得」においては、カエル卵子抽出液を用いて *in vitro* でゲノム再プログラム化を再現することで、全能性獲得因子とメカニズムを明らかにする。「②全能性の発揮」においては、エピゲノム再編成因子を同定し、全能性細胞 (核) の構築をめざす。「③全能性の消失」においては、独自に確立した幹細胞培養技術を活用し、全能性を喪失した幹細胞から人工胚盤胞の構築を経て、胚体外を含めた完全な個体形成を目指す。さらに、体細胞核移植の新規技術開発により、全能性胚から胎盤までの全期間の完全な再構築を目指す。

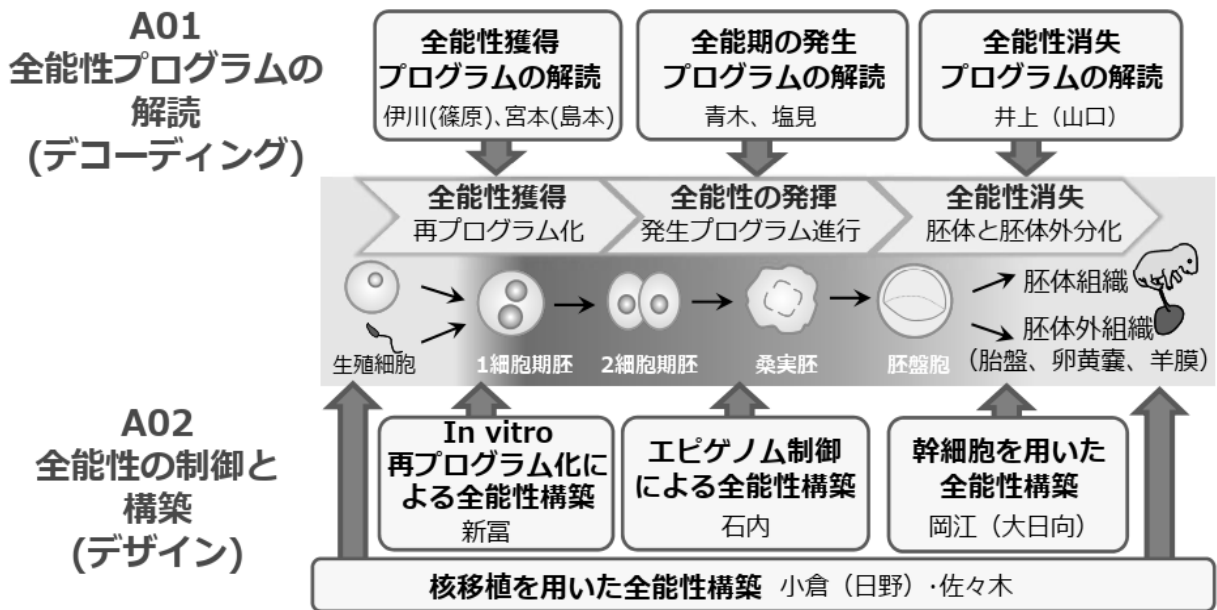


図1.「全能性のプログラム」における研究項目、時間軸と研究者の分担の関係。A01(解析系)とA02(応用系)の2つの項目と3つの時間軸からなる。令和2年度からこのメンバーに公募研究班が加わり、さらに複合的・統合的に領域研究を推進している。

革新的・創造的な学術研究への発展、領域設定期間終了後に期待される成果

分化した生殖細胞＝配偶子の最終的な目的は、受精により全能性を獲得することにある。本領域では、生殖細胞のゴールである「全能性獲得」を逆にスタート地点とし、全能性の概念を軸とした発生プログラムの理解とその制御・構築を行なう。国内・海外において、全能性の基礎から応用的研究を含めた総合的な研究領域は存在しない。本申請により、発生生物学、遺伝学、発生工学、医学、生物物理学、情報統合学の最新の知見と解析技術を有機的に連携させた、従来の単体の課題では達成し得ない、全能性の本質を統合的に理解する研究領域が創成される。また、全能性のプログラムを理解し、その人為的制御を可能にできる。本新学術領域研究の成果により、以下のような基礎生物学の新たなパラダイムから産業・医学領域応用まで多岐に渡る波及効果が期待できる。

①全能性獲得のメカニズムにおける種間差は少ないと予想される。たとえば、カエル卵子の抽出液は多様な動物の精子や体細胞を再プログラム化し、また異種間クローン（卵子とドナー細胞が別種）では胚性遺伝子活性化期まで正常な発生過程を辿ることが知られている。本領域の成果は、種間を超えた全能性の普遍的原理に迫ると期待される。

②ヒストンを失った精子ゲノムそして固有のヒストン修飾を持つドナー細胞ゲノムいずれもが卵子内で同じエピゲノム状態を獲得する。もしゲノム再プログラム化が元のヒストン記憶に依存しないのであれば、残るはDNAの記憶への依存である。塩基配列には特定の卵子ヒストンをリクルートする未知の暗号が隠れているかもしれない。本領域の成果は、新たなゲノム機能の解明へ道を開く可能性がある。

③受精卵・胚の体外操作は、生後の代謝機能などに長期的な影響を与えることが明らかになっている。本領域は、マウスおよび小型霊長類マーモセットの胚および出生後産子の解析を通じて、より安全な生殖補助医療のための知的基盤の構築、そして着床前診断やゲノム編集技術など新規技術における倫理性・安全性保証に関する基本情報の確立に貢献する。

④本領域の推進により、発生工学技術の改良と新規開発が進む。これらの技術は、畜産学、水産学などの産業へ応用され、より安全で効率的な食料生産手段の開発の基礎となると期待される。また、全能性獲得機構の解明により、体細胞クローン技術は体外受精並に改善される。この技術は、畜産・創薬などの産業応用、霊長類のヒト疾患モデルの開発、絶滅危惧種の保全など多くの応用が期待される。

⑤本領域で作出するマウス全能性幹細胞および人工胚盤胞は、個体発生における胎児と胎盤の相互作用を理解する究極的な実験モデルになると期待される。また、これらに完全な発生能を賦与することができれば、いったん樹立した幹細胞のみを用いて理論的には無限に個体を作製することができるため、マウス以外の産業動物・非ヒト霊長類においても全能性幹細胞および人工胚盤胞の作製に挑戦することの意義は大きい。

4 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

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

本領域採択時の審査結果の所見（公開）は以下の通りである。

本研究領域は、先進的ゲノム解析技術と発生工学の専門家を集めて受精卵における全能性の実体を明らかにしようとする提案である。受精卵の全能性は、言わば生命の根源であることから、その基礎から応用を含めた本提案は極めて重要であり、新学術領域として妥当である。本研究領域で得られる成果は、種を超えた全能性の普遍的な原理に迫るとともに、生殖医療や動物種の保存、畜産分野など幅広い分野での応用が期待される。あわせて、生殖補助医療やゲノム編集などの新規技術における倫理基準・安全性に関する基本情報をもたらすことが期待される。

研究領域の体制については、全能性プログラムの解明を共通の課題に設定しつつも多分野の研究者から構成され、多角的な解析や有機的な連携が期待される。また、領域代表者のマネジメント実績は十分であり、領域推進のビジョンも明確で、総括班内における国際活動支援等の役割分担及び活動内容も明確に計画されているなど、着実な遂行が期待できる。全能性獲得のみならず、その消失という重要な視点を加えており、双方向からの機構解明が望まれる。

一方、一部の計画研究については、研究領域における位置付けを明確にすることが望まれる。

下線部分は、以下の留意事項2に関連すると考えられる。非公開の留意事項として以下の2件を頂いた。

【留意事項1】

「領域研究の遂行に当たっては、平成11年度から続いた過去の採択領域の卓越した研究成果が、どのように格段の発展や飛躍的展開に結びついているかについて具体的に整理する必要がある。」

回答：

過去の採択領域では、生殖サイクル全般、すなわち受精－胚発生－着床を経て、始原生殖細胞の発生－生殖細胞の分化・減数分裂－配偶子形成までを研究対象としていた。これらのすべてのステージに卓越した研究能力を持つメンバーを配置した結果、特に始原生殖細胞の発生以降から配偶子形成までの研究において最先端の研究成果を収めることができた。しかし一方で、生殖サイクルのスタートポイントである全能性に関する研究については、数が限られる受精卵の解析が壁となっていた。そこで本領域は、最新の受精卵・初期胚のゲノム・エピゲノム解析技術を取り入れ、当該分野で著しい成長を見せている若手研究者を集めることにより、全能性プログラムの解明のための新領域のスタートを切ることができた。この成功には、生殖サイクルの連続性を生かした過去の領域の礎がある。以下に具体的に説明する。

①卵子のエピゲノム関連因子：これまでの領域の研究活動により、多くの卵子由来因子（母性因子）の機能が明らかにされ、その多くは受精卵の全能性確立にかかわるエピゲノム制御に関わっている。たとえば、能動的脱メチル化関連因子（仲野ら）、母方刷り込み機構のDNAメチル化転移酵素（佐々木裕之ら）、卵子内性siRNA（佐々木裕之ら）など多くの優れた業績が上げられた。

→ これらの成果は、本領域における全能性に関わる母性因子とエピゲノムの解明につながっている。ヒストン依存性母方ゲノム刷り込みの解析（小倉ら *PNAS* 2019、井上ら *Nat Genet* 2021）、ハムスター卵子を用いた初の母性PIWI関連因子の解析（塩見ら *Nat Cell Biol* 2021、小倉ら *Nat Cell Biol* 2021）、非典型H3.3分布（石内ら *Nat Struc Mol Biol*）など、教科書的な発生エピゲノムの知見を越えた新たな成果につながっている。

②精子発生におけるエピゲノム変化および受精因子獲得：精子発生の過程においてもエピゲノムは大きく変化し、受精関連因子も出現する。過去の領域で生殖幹細胞株のエピゲノム解析（篠原ら）、Izumoの発見（岡部ら）、雄性生殖細胞のH3K9me2制御（眞貝ら）など多数の成果が上がった。

→ これらは本領域における全能性の獲得準備に関わる父性因子の解明につながっている。前精原細胞の領域特異的DNAメチル化（塩見ら *Dev Cell* 2019）、新規膜融合因子の同定（伊川ら *PNAS* 2020）、精原幹細胞における半数体発生および胚発生に必須なエピゲノム（大保ら *Development* 2021）など、新たな展開に成功している。

③発生工学技術の開発：最初の特定領域研究（平成11年）から新規発生工学技術の開発が精力的に進められ、生殖サイクル研究へ応用された。例えば、体細胞ゲノムを再プログラム化する核移植クローン技術の開発は、若山らと小倉らが強力に推し進め、クローン胎盤のエピゲノム解析も進められた（岡江

ら)。マウス多能性幹細胞からの PGC 様細胞および産子の作出にも成功している (斎藤ら)。
 → これらを基盤として、本領域においても一層の発生工学技術の応用が進んでいる。核移植クローンにより胎盤形成におけるゲノム刷り込み型 miRNA の重要性が明らかにされ(小倉ら *Nat Commun* 2020)、ヒト全胞状奇胎からの trophoblast stem cell の樹立 (岡江ら *PNAS* 2020)、精母細胞を用いた受精技術の改良 (小倉ら 論文投稿中) など全能性獲得の理解につながる発生工学の開発研究が進められている。

以上の通り、過去の採択領域の研究成果は、全能性のプログラムの理解と応用へと発展し、将来の新たな学問領域の開拓へとつなげている。

【留意事項 2】

「研究項目 A02 の計画研究 (佐々木) について、マーモセットを用いた研究の必要性・重要性・独創性などについて疑問視する意見が複数あった。マウスとの比較研究の具体的な内容について、詳細な説明が必要である。」

回答：マウスとの比較研究の具体的な説明を以下に示す。

①発生生物学における重要性：マーモセットは、ヒトやカニクイザルと同じ真猿類に属し、発生学的にヒトと多くの共通性を持っている。一方、マウスは、発生学的特性が他の哺乳類と異なる進化を遂げている。特に着床直後のマウスが円錐状であるのに対し、ヒトを含む霊長類の胚は円盤状であるという大きな相違がある。また、汎用発生ステージ区分であるカーネギーステージの Stage 4 (マウス受精後 4.5 日、ヒト受精後 8~9 日) では、霊長類の胚はこの時期に既に羊膜上皮細胞、胚体外中胚葉が出現しているが (図 1 右 赤字)、マウスの胚では認められない。さらに、マーモセットではヒト胚における培養期間の制限はなく、また質の高い自然交配卵の採取と利用が容易である。ヒトを含めた霊長類の初期発生を理解するためには、マーモセットを用いた研究の意義は大きい。

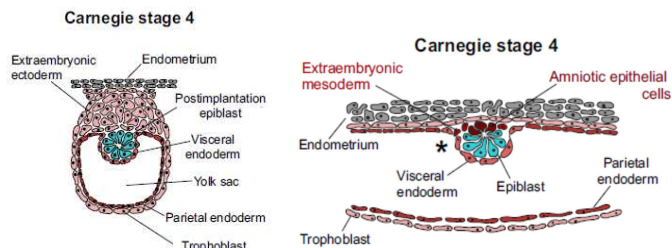


図 1. カーネギーステージ 4 のマウス胚 (左) と霊長類の胚 (右) の比較。この時期に霊長類の胚特異的な発生である体外中胚葉と羊膜上皮細胞の分化が認められる。

②モデル動物としての優位性

マウスよりもヒトに近い霊長類疾患モデルの作出は、特に大規模飼育場を持つ中国の研究所で強力に進められている。本領域研究では、小型霊長類であるマーモセットの利点を最大限に生かし、体細胞クローン技術およびキメラ作製技術による全能性の理解と技術応用を目指すとともに、霊長類疾患モデルの作成を進め、当該領域の世界的優位性を高める。これまでにマーモセットでは、ヒト疾患と類似した症候を示すアルツハイマーやパーキンソン病、糖尿病など遺伝子改変疾患モデルが多く作製され、モデルとしての有用性が高い。しかし霊長類の中では繁殖効率の高いマーモセットでも、繁殖開始まで 2 年という時間が必要である。本研究でクローン技術が確立されれば、これらの疾患モデルマーモセットから均一な表現型を示すクローン個体の複数提供が可能となる。すでに安定して疾患モデルの体細胞由来のクローン胚盤胞 (> 10%) を得るまで技術開発に成功し、近々、胚移植実験を実施する予定である (小倉班との共同研究)。

③マーモセットを用いた研究の独創性

佐々木らは、着床後の胚の発生を *in vitro* で観察することが可能となる疑似着床胚培養をマーモセット初期胚で確立し、マーモセット胚が霊長類特異的な発生様式を持つこと、胚発生のスピードがマーモセット子宮内の胚の発生と類似していることを見出した (図 2)。このことは、クローン胚の発生能やキメラ作製における注入細胞の宿主胚への寄与をマーモセット仮親の子宮に移植せずに評価が可能になるという画期的な技術である。動物実験の福祉を推進するためにも、霊長類の研究を効率良く実施する上でも必要な技術であり、独創的な研究として発展できる。

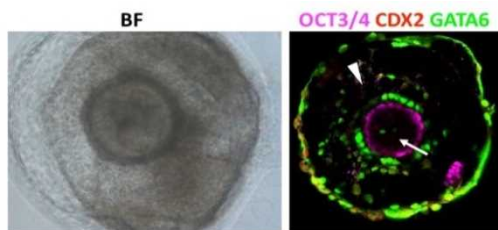


図 2. 疑似着床胚培養によって発生したマーモセット胚。現時点で 17 日まで培養可能となり、*in vitro* で羊膜腔、尿膜腔の形成が認められた。

以上の通り、マーモセットを用いた研究により、マウスでは得ることが難しい、ヒトあるいは哺乳類における全能性および発生学的知見を得られることが期待される。

5 研究の進展状況及び主な成果

(1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか、(2) 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。

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

A01:「全能性プログラムの解読(デコーディング)」

項目 A01 は、解析系の研究を主体としており、「①全能性獲得プログラムの解読」「②全能期の発生プログラムの解読」「③全能性消失プログラムの解読」の3つのステージに従った課題分けにより研究を進めている。①全能性獲得プログラムの解読では、伊川と篠原(計画)は、ゲノム編集技術を駆使して、全能性に関連する卵子(母性)因子の同定を行ない、さらにGS細胞をモデルとして全能性一多能性遷移のメカニズムを解明する。一方、既知の因子(ヒストン関連因子など)の機能については、大保(公募)が父性因子、黒木(公募)と本多(公募)が母性因子の機能を明らかにする。栗原(公募)は、植物モデルを用いて、全能性獲得機構を解明する。宮本と島本(計画)は、マウス受精卵や初期胚において、光遺伝学ツールと細胞物理学的解析を駆使し、全能性核に特異的な構造や性質、そして全能性核の構築における核アクチンの役割を明らかにする。②全能期の発生プログラムの解読では、青木(計画)と原(公募)は、遺伝子発現とエピゲノムおよび母性 mRNA の翻訳調整の解析により、遺伝子発現プログラムを調節するメカニズムの解明をめざす。そして、中村(公募)と関(公募)は、この遺伝子発現プログラムを模倣する系としてES細胞由来の2-cell-like cellを用いて、全能性の分子メカニズム解明を行う。深谷(公募)は、ショウジョウバエの実験系により、遺伝子発現の位置的時間的制御を解明する。大杉(公募)と京極(公募)は、ゲノムDNA量や核・細胞質比が発生に与える影響、そして橋本(公募)は割球間の発生能力・性質の差を明らかにし、胚発生の総合的理解を進める。塩見(計画)は、転移因子および結合RNA因子に依存する胚性遺伝子の発現制御メカニズムを明らかにする。石谷(公募)

は、ゼブラフィッシュを用いて、正常胚発生を保証する異常細胞の完治・排除メカニズムを解明する。

③全能性消失プログラムの解読では、井上と山口

(計画)および高岡(公募)は、母性ヒストン修飾により制御されるインプリンティングをモデルに胚と胚体外への最初期の分化過程におけるエピゲノム動態を解明し、その人為的制御法を確立する。

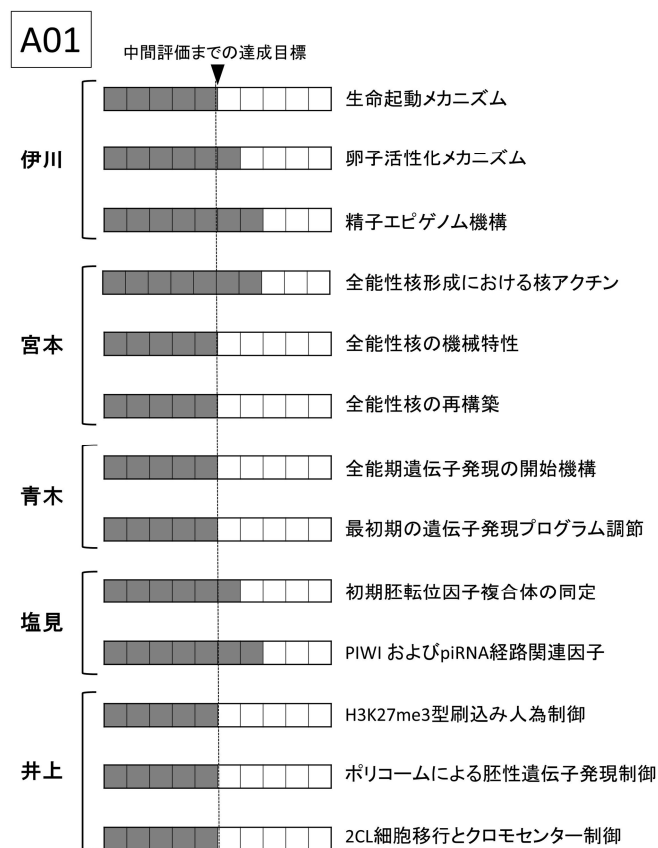
依馬(公募)は、霊長類モデルを用いて、栄養膜細胞の発生メカニズムを明らかにする。なお、原田(公募)は、単一細胞 multi-omics 技術の開発により、全能性獲得機能の解明を目指すとともに、領域内研究者への専門技術の提供を行う。

【中間評価時までの研究の進展】

各班員の間評価までに研究は順調に進展している。計画研究については、右図に示した。目標を大きく超えて進んでいる研究課題としては、伊川の精子エピゲノム機構、宮本の全能性核形成における核アクチン、塩見のPIWIおよびpiRNA経路関連因子があり、いずれも顕著な論文成果が発表されている。目標に達していない研究課題は無かった。公募研究も順調である。詳細については、(2)に記載した。

A02:「全能性の制御と構築(デザイン)」

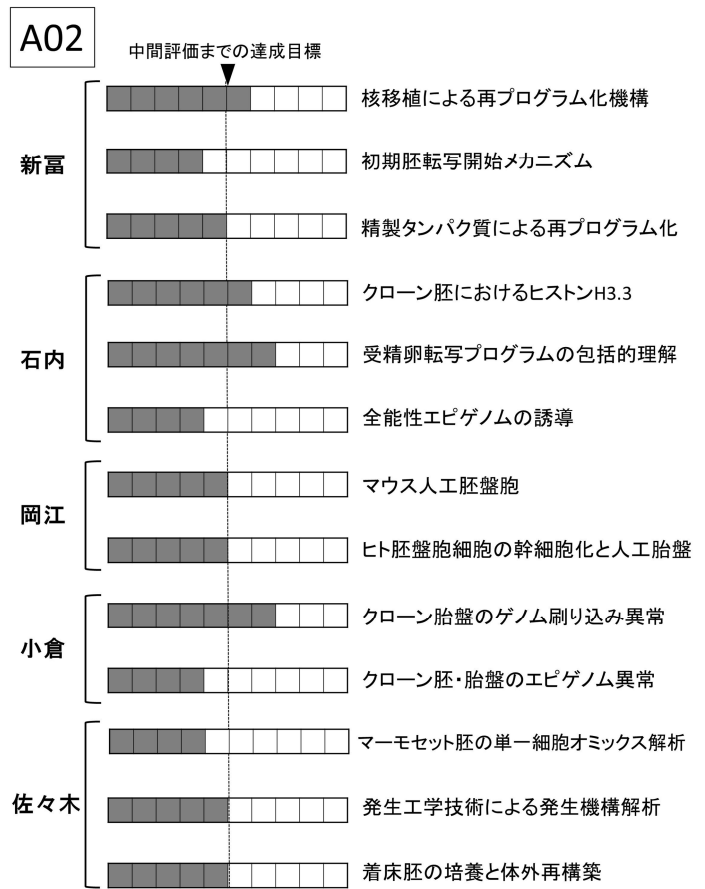
項目 A02 は、応用系の研究を主体としており、「①In vitro 再プログラム化による全能性構築」、「②エピゲノム制御による全能性構築」、「③幹細胞を用いた全能性構築」、「④核移植を用いた全能性構築」の3つのステージによる課題分けによる研究を実施している。①In vitro 再プログラム化による全能性構築で



は、**新富**（計画）は、カエル卵抽出液による *in vitro* ゲノム再プログラム化を利用し、全能性獲得と全能性起動に関わる因子の同定を行なう。**伊藤**（公募）は、亜鉛シグナル依存的な受精・胚発生メカニズムを解明する。**②エピゲノム制御による全能性構築**では、**石内**（計画）は全能性獲得・消失過程をヒストンシャペロンなどの制御分子に着目した解析を行ない、全能性特有分子基盤の理解と全能性核の確立をめざす。**③幹細胞を用いた全能性構築**では、**岡江と大日向**（計画）は、ES 細胞、TS 細胞、新規原始内胚葉幹細胞（PrES 細胞）を用いたマウス人工胚盤胞、そして体細胞由来のヒト人工 TS 細胞樹立など、全能性由来の全系列の幹細胞化をめざす。また、**中馬**（公募）はマウス ES 細胞をモデルとして、細胞周期活性、代謝活性、染色体安定性の関連を明らかにする。**④核移植を用いた全能性構築**では、これらすべてのステージに関わる研究として、**小倉と日野**（計画）は主にマウス核移植実験系を用いて体細胞核移植胚と受精胚のエピジェネティクス特性を比較することにより、完全な再プログラム化の分子基盤を解明する。**佐々木**（計画）は非ヒト霊長類モデルであるマーモセットの核移植等の発生工学実験系を用いることにより、全能性獲得および胚発生のメカニズムにおける霊長類とマウスの共通性および非共通性を明らかにする。

【中間評価時までの研究の進展】

各研究課題がほぼ順調に進展している。計画研究の進展状況については右図に示した。特筆すべき成果として、新富のトポイソメラーゼ II α の機能解析、石内の受精卵における H3.3 のゲノム分布解析、小倉の刷込み型 miRNA の胎盤異常への関与などである。公募研究の成果も含め、詳細は(2)に記載をする。



(2) 本研究領域により得られた成果

以下、研究項目ごとに計画班と公募班の順番で記載をする。なお、本研究領域における顕著な成果は、その解説とともに領域ホームページを通じて発表を行った。2021年5月までに顕著な成果として Science、PNAS、Nat Commun、Nat Struct Mol Biol など 24 件を計画研究 8 班、公募研究 2 班から報告した。

A01 : 「全能性プログラムの解読 (デコーディング)」

●計画研究●

伊川・篠原班：ゲノム編集マウスを用いて全能性に関連する卵側因子を探索し、OOSP1~3 因子は単独でもファミリーとしても必須でない一方 (*Cells* 2020)、PABPN1L が GV~MII 期の母性 mRNA 分解に重要であることを見出した (投稿準備中)。また同様のアプローチから精巣上体の精子成熟を制御するルミクリン機構を解明するとともに (*Science* 2020)、精子と卵の融合課程に必須な 6 因子を同定した (*PNAS* 2020a; *PNAS* 2020b)。篠原らは、センダイウイルス F タンパク質をレンチウイルスベクターに発現させることで、精子幹細胞へ効率よく遺伝子導入できる実験系を開発した (*Stem Cell Rep* 2020)。

宮本・島本班：全能性を有するマウス受精卵の前核内構造を調べ、核内に存在するアクチンタンパク質 (核アクチン) が前核期特異的に重合化し、高次のネットワーク構造を作り出していることを示した。さらに、受精卵特異的重合化核アクチンが前核内の DNA 損傷修復を促し、正常な胚発生に必要なこと (*Cell Rep* 2020) および核移植胚における核アクチンの形成不全を報告した (*J Biochem* 2020)。全能性獲得に必須となる前核の形成過程に新たな知見をもたらし、本領域の目標達成に貢献した。

青木班：受精後の遺伝子発現調節に関わることが示唆されていた *Dux* についてその family 遺伝子が多数存在し、それらが 1 細胞期に一過的に発現することによって 2 細胞期での遺伝子発現に関わっていることを確認した (*Sci Rep* 2020 **中村班との共同研究**)。これにより、受精後の全能期における遺伝子発現プ

プログラムを進行させるメカニズムの一端を明らかにできた。また、1 から 2 細胞期に発現が低下する遺伝子についてその調節に H3.1/H3.2 が関わっていることを示唆するデータを得た (*Life Sci Alliance* 2021)。

塩見班：マウスゴノサイトにおける転移因子の解析から accessibility が大きく変動するクロマチン領域を見出した (*Dev Cell* 2019)。一方、MERV-L のマウス 2 細胞期胚における一過的高発現を抑制することで、胚発生の遅延と異常な細胞分裂、さらにはゲノム不安定性が誘導され、正常な桑実胚や胚盤胞が形成されないことを明らかにした (図 1)。また、PIWI による転移因子抑制が二段階 (polIII の抑制とその後のヘテロクロマチン化) で起こることを明らかにした (*EMBO J* 2019)。PIWI 機能解析のモデル動物としてハムスターを導入した。ハムスター PIWIL1 KO は不妊であり、また、KO 卵は受精後 2 細胞期胚で発生が完全に停止した (*Nat Cell Biol* 2021)。この表現型の原因を探るため、ハムスターゲノムの再解析を行い、小分子 RNA と転移因子の解析が可能な良質のゲノム配列を構築した (*Nucleic Acids Res* 2021)

井上・山口班：非典型ポリコム抑制複合体 1 の必須構成因子 Pcgfl/6 の欠損卵では、一部の遺伝子で H3K27me3 が欠落すること、そして H3K27me3 の欠落状態は受精後も不可逆的に伝承され、次世代において胎盤特異的なゲノム刷り込みの破綻と胎盤過形成を引き起こすことを明らかにした (*Nat Genet* 2021)。

○公募研究○

大杉班：哺乳類の一倍体胚は 6-7 回分裂する間に多くが発生停止してしまうが、その理由はわかっていない。本研究では、細胞の体積を変化させた一倍体胚を作成し、発生能を検討した。その結果、倍数性とは独立に、「ゲノム DNA 量に対する核や細胞の体積比」の変化が発生停止を引き起こすことを見出し、全能性発揮における重要性が示唆された。

深谷班：初期胚内において遺伝子発現の空間パターンが形成されるメカニズムについて詳細な解析を行った。その結果、「転写バースト」と呼ばれる転写活性の揺らぎが初期胚内の位置に応じて柔軟に変化することで、遺伝子発現の空間パターンが形成されるという基本原理が解明された (*Curr Biol* 2021)。本成果は、全能性が消失し発生運命を規定する遺伝子発現プログラムが確立される仕組みを理解する上で重要な知見である。

栗原班：体細胞リプログラミング過程で全能性獲得に重要な植物ホルモンであるオーキシンが、受精胚においても全能性獲得に必要であるかを解析した。オーキシン合成遺伝子変異体においても受精胚では、胚体外細胞から胚体細胞への細胞運命転換が観察されたため、オーキシンが重要でないことが明らかとなった。また、植物の配偶子である卵細胞をつくる過程において、植物の配偶体細胞の初期状態が配偶子 (卵細胞) である可能性を示し、植物において「全能性獲得」に迫る重要な知見を得た (*PLoS Biol* 2021, 図 2)。

依馬班：霊長類において、胎盤組織は胚盤胞の栄養膜細胞から、胎児組織は内部細胞塊から発生することがげっ歯類の知見から推測されているものの、これまで実験的検証がなされていなかった。これまでに、カンクイザル内部細胞塊から効率よく trophoblast stem cell (TS 細胞) が出現することを明らかにした (伊川班との共同)。さらに、胚盤胞後期においても内部細胞塊から栄養膜細胞に供給する細胞の流れが存在することを示した。

黒木班：卵子特異的な H3K9 脱メチル化酵素 Jmjd1a/b 欠損マウスの解析から、Jmjd1a/b が i) 卵の正常な H3K9 メチル化レベルの維持と遺伝子発現に寄与すること、ii) 受精後の初期胚発生に重要であることを明らかにした。また核置換実験の結果から、母性 Jmjd1a/b 欠損卵の胚発生異常が細胞質に起因する可能性が示唆された (小倉班との共同研究)。

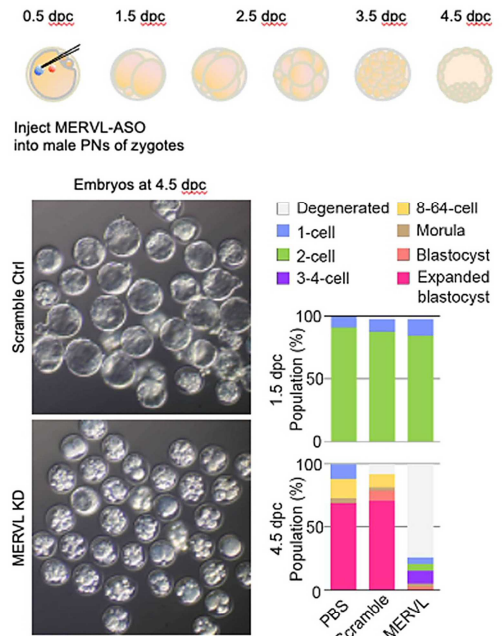


図 1. 修飾アンチセンスオリゴにより MERV-L の 2 細胞期胚における一過的高発現のほぼ完全な抑制に成功した。トランスポゾン発現が宿主の発生に不可欠であることを実験的に示した (塩見班)。

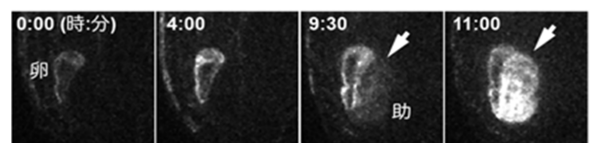


図 2. 植物卵細胞の形成過程のライブイメージングに成功。助細胞変異体の卵細胞特異的遺伝子の発現 (矢印) は卵細胞が初期状態であることを示唆する (栗原班)。

橋本班：着床前のステージを母体内で発生しても2細胞期の片割球のみが胚体に寄与するマウスの作成方法を確立した。これを用いて2細胞期の片割球のみが胚体に寄与する場合と両割球が寄与する場合で発生効率を比較している。この結果によって、これまで等価で全能性を持つと考えられてきた2細胞期で既に割球間で発生のパテンシャルに差があるのか、さらには母体内では割球間競争を抑制する意義などを見出すことができると期待される。

原班：これまでに、ショウジョウバエ卵における母性 mRNA 翻訳調節に必須なキナーゼである PNG の制御因子の GNU が、卵内の RNP 顆粒に局在することを明らかにした。このことは、卵賦活時に、GNU が足場となり、PNG を RNP 顆粒へリクルートすると同時に、そのキナーゼ活性化することを意味しており、卵賦活化シグナルから、母性 mRNA 翻訳調節を全能性獲得に至る分子経路の理解にむけて、重要な知見となった。

原田班：本研究では、全能性獲得機構の解明のために、全能性因子の協調的な機能の解析が可能な同時性を担保したエピゲノム解析手法の確立を目指している。これまでにヒストン修飾抗体を用いた単一細胞レベルでのエピゲノム解析が可能となった。本手法は組織細胞由来のような非接着細胞にも適応可能であり、領域内で幅広く利用可能である。現在、トランスクリプトーム情報や複数抗体を同時に用いた場合の条件検討を進めている。

高岡班：マウス卵割期における全能性の消失機構に関係すると期待される片アレル父性の *Lefty1* の発現は、H3K27me3 依存的な非典型ゲノム刷り込み機構によって制御されていることを明らかにした(**井上班との共同研究**)。

大保班：ヒストンメチル化酵素 *Kmt2b* が精子幹細胞の段階でメチル化を入れる標的遺伝子群は、幹細胞では発現が微弱であるが、精子細胞や次世代の受精後に高発現する遺伝子群であった。精子細胞で高発現する *Tsga8* の遺伝子欠損マウスを作成、解析し、精子の形態異常により不妊になることを明らかにした(*Development* 2021 **小倉班との共同研究**)。さらに、*Kmt2b* 欠損精子の受精により、初期発生の遺伝子発現に異常が起こることから、次世代の全能性獲得や初期発身に影響を与える可能性が示唆された (**小倉班との共同研究**)。

中村班：ES 細胞から2細胞期様細胞へと変換される際に脂肪滴が形成されることを見出した。本研究では、ES 細胞から誘導した2細胞期様細胞において、ES 細胞には存在せず、卵子に存在することが知られている脂肪滴が形成されることを明らかにした (*J Reprod Dev* 2021)。これまでに、2細胞期様細胞は、全能性細胞を含むヘテロな細胞集団であることが明らかにされているため、脂肪滴の有無により、真の全能性細胞の同定につながる可能性がある。

関班：転写制御因子 *CtBP1/2* を ES 細胞でノックアウト (DKO) することで、2細胞期特異的遺伝子群の発現が上昇することを突き止めた。また、2細胞期特異的遺伝子群のマスター制御因子である *DUX* を *CtBP1/2* DKO でノックアウトしたところ、一部の2細胞期特異的遺伝子群の発現は維持され、その発現誘導に機能未知因子 *PRAMEL7* が関与していることを明らかにした。この結果は、分子の実体が未知である *DUX* 非依存的な胚性ゲノム活性化機構の解明に繋がることが期待できる。また、*CtBP1/2* の ES 細胞における primed 型から naive 型への移行への関与も明らかにした (*J Cell Sci* 2020)

京極班：受精卵における雌雄前核のサイズを生み出す原因が核膜孔の密度によって決まっていること、ヒストンメチル化状態が前核のサイズによって大きく影響を受けることを明らかにした。ヒストンメチル化状態の適正な維持は胚が全能性を獲得する上で非常に重要であり、本研究結果は全能性を理解する上で重要な成果であると考えられる。

石谷班：本新学術領域の他の研究者が使っていない、イメージングに適したモデル動物である小型魚類ゼブラフィッシュを用いた解析を行い、正常な初期胚において DNA ダメージやエピゲノム異常を持つ全能性が低下した不良細胞が頻繁に生じるものの、これらが細胞死によって排除されることで胚の全能性が担保されることを発見した。また、ゼブラフィッシュと生化学を駆使して、発生時の *de novo* 変異によって生じるヒト疾患の原因遺伝子の同定にも成功した。

A02：「全能性の制御と構築（デザイン）」

●計画研究●

新富班：核移植に伴う核の再プログラム化の分子基盤を理解するため、カエル卵抽出液を用いてドナー核の動態を試験管内で再現する方法を確立した。そしてこの方法を用いて、分裂期卵特有の成分が再プログラム化を誘起することを突き止めた。さらに、質量分析によって同定した分裂期クロマチンタンパ

ク質のうち、分裂期染色体構築に不可欠なタンパク質であるトポイソメラーゼII α がそのC末端領域を介して染色体上で適切に酵素活性を発揮するメカニズムを明らかにした (*Nat Commun* 2021)。現在、その再プログラム化での役割を検討している。

石内班：微量 ChIP-seq 法を適用することで、ヒストンバリエーション H3.3 が通常の細胞と大きく異なり、受精前後にゲノムワイドに均一に分布していること、そしてこの非典型 H3.3 パターンが全能性胚に特有の転写状態の確立に重要であることを明らかにした (*Nat Struct Mol Biol* 2021 小倉班との共同研究、**図 3**)。

岡江・大日向班：ヒト TS 細胞技術を駆使して、全胎状奇胎からの TS 細胞の樹立(*PNAS* 2020)、そしてヒトのナイーブ型 ES 細胞は TS 細胞へと分化できるが、プライム型 ES 細胞は分化できないことを見出した。この壁に霊長類特異的な miRNA クラスター(C19MC)が関与していることをエピゲノム編集によって証明した。以上の結果は、C19MC の抑制が分化全能性の消失に関わることを示唆している。マウス人工胚盤胞作製に必須であると考えられる原始内胚葉の幹細胞(PrES 細胞)の樹立に世界に先駆けて成功した (論文投稿中)。

小倉・日野班：20 年以上にわたっての謎であったクローンの巨大胎盤の原因が、coding 遺伝子でなく、刷込み型 miRNA クラスターの刷込み消去であることを明らかにした (*PNAS* 2019; *Nat Commun* 2020 本多班との共同研究)。また、マウス TS 細胞の特徴として、遺伝子間領域に大規模な H3K9me3 ドメイン構造が存在することを明らかにし、この H3K9me3 の除去により、TSC 由来のクローンマウスを作出した。これにより、胚体外系列細胞が全能性を獲得し得ることを初めて示すことができた (論文投稿中 岡江班との共同研究)。また、ノックアウトハムスターの作出に成功し、精子アクロシンが受精に必須であることを明らかにした (*PNAS* 2020)。また、1998 年の最初の成功以降、技術改良が進まなかった精母細胞を用いた顕微授精が、卵子細胞質を減少させることで劇的に産子率が改善することを明らかにした (論文投稿中 京極班との共同研究)。

佐々木班：非ヒト霊長類の胚における全能性の獲得と初期発生を理解するために、マーモセットクローン胚の作出を行い、クローン胚盤胞を得ることに成功した (小倉班との共同研究)。更にこれらクローン胚の初期発生、特に着床後時期の胚発生を *in vitro* で解析を可能にするため、マーモセット *in vitro* 疑似着床胚培養法を開発した。これはヒト着床胚の発生メカニズムの解明に大きく役立つと期待される。

○公募研究○

伊藤班：亜鉛シグナル依存的な哺乳類発生メカニズムを明らかにするために卵特異的 Zip10 遺伝子欠損マウスを作製し、解析した。その結果、卵特異的 Zip10 遺伝子欠損雌マウスは卵内亜鉛イオン量の減少および低妊孕性を示した。またその原因は受精後の胚盤胞への発生率の低下であった。以上より、卵および胚における亜鉛シグナルは全能性に重要な役割を持つことが示唆された (小倉班との共同研究)。

中馬班：マウス初期胚由来の胚性幹細胞を用いて、増殖分化能および染色体安定性の可塑性と人為制御の可能性について研究を行い、胚性幹細胞の細胞周期活性および代謝活性と染色体安定性の間には負の相関があり、また胚性幹細胞の細胞周期活性および代謝活性を低分子化合物等により適切に調整する事で、多分化能を維持しつつ染色体安定性を向上する幾つかの特異的な制御経路を同定する事が出来た (論文投稿中 伊川班(篠原)との共同研究)。

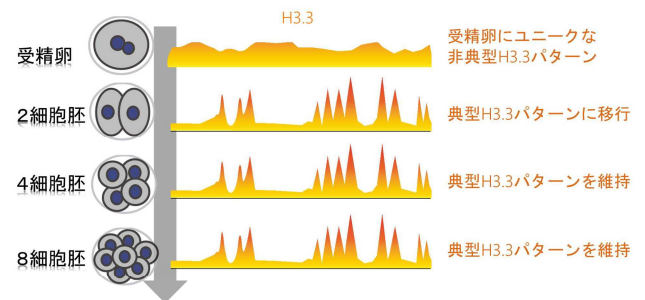


図 3. マウス受精直後にヒストン H3.3 は、ゲノムワイドに均一に分布 (非典型パターン) し、全能性胚に特有の転写状態の確立に重要な働きをする (石内班)。

6 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、一般向けのアウトリーチ活動等の状況。令和3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。

雑誌論文（原著論文 192 件、総説 16 件）[重複含まず]、招待講演（国内 88 件、国際 28 件）などのうち主な成果を以下に示す。各班員の（ ）内は総数を示す。

A01：全能性プログラムの読解（デコーディング）

●計画研究1：伊川 正人・篠原 隆司（分担）●

雑誌論文（原著論文 56 件、総説 3 件）：

1. Morimoto H, (略), Ogura A (計画班), (略), Trumpp A, *Shinohara T. An interplay of NOX1-derived ROS and oxygen determines the spermatogonial stem cell self-renewal efficiency under hypoxia. *Genes Dev.* 35:250-260 (2021)
2. Shimada K, Park S, (略), *Matzuk MM, *Ikawa M. ARMC12 regulates spatiotemporal mitochondrial dynamics during spermiogenesis and is required for male fertility. *PNAS.* 118:e2018355118 (2021)
3. Liu C, Miyata H, (略), *Zhang F, *Ikawa M. Bi-allelic DNAH8 variants lead to multiple morphological abnormalities of the sperm flagella and primary male infertility. *Am J Hum Genet.* 107:330-341 (2020)
4. Kiyozumi D, Noda T, (略), *Matzuk MM, *Ikawa M. NELL2-mediated lumicrine signaling through OVCH2 is required for male fertility. *Science.* 368:1132-1135 (2020)
5. Noda T, Lu Y, (略), *Matzuk MM, *Ikawa M. Sperm proteins SOF1, TMEM95, and SPACA6 are required for sperm-oocyte fusion in mice. *PNAS.* 117:11493-11502 (2020)
6. Fujihara Y, Lu Y, (略), *Matzuk MM, *Ikawa M. Spermatozoa lacking Fertilization Influencing Membrane Protein (FIMP) fail to fuse with oocytes in mice. *PNAS.* 117:9393-9400 (2020)
7. Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Matoba S, Ogura A (計画班), *Shinohara T. Autologous transplantation of spermatogonial stem cells restores fertility in congenitally infertile mice. *PNAS.* 117:7837-7844 (2020)
8. Fujihara Y, Noda T, (略), *Matzuk MM, *Ikawa M. Identification of multiple male reproductive tract-specific proteins that regulate sperm migration through the oviduct in mice. *PNAS.* 116:18498-18506 (2019)

学会発表（招待講演 国内 16 件、国際 10 件）：

1. Ikawa M. “Signaling During Gamete Maturation and Fertilization” Discussion Leader, GRC on Fertilization and Activation of Development, Boston, Jul. 2019

書籍：

1. 野田大地, 大浦聖矢, 伊川正人「gRNA/Cas9 複合体を用いたマウスでのゲノム編集」羊土社 実験医学別冊 完全版 ゲノム編集実験スタンダードII実践編 2019年12月

●計画研究2：宮本 圭・島本 勇太（分担）●

雑誌論文（原著論文 14 件、総説 6 件）：

1. Tomikawa J and *Miyamoto K. Structural alteration of the nucleus for the reprogramming of gene expression. *FEBS J.* in press (2021) (総説)
2. Shindo T, Ihashi S, Sakamoto Y, Okuno T, Tomikawa J, *Miyamoto K. Visualization of endogenous nuclear F-actin in mouse embryos reveals abnormal actin assembly after somatic cell nuclear transfer. *J Biochem.* 169:303-311 (2021)
3. Tanaka M, *Shimamoto Y. Local body weight measurement of the spindle. *Dev Cell.* 56:871-872 (2021) (総説)
4. Kono F, Kawai S, *Shimamoto Y, *Ishiwata S. Nanoscopic changes in the lattice structure of striated muscle sarcomeres involved in the mechanism of spontaneous oscillatory contraction (SPOC). *Sci Rep.* 10:16372 (2020)
5. Okuno T, (略), Grosse R, *Miyamoto K. Zygotic nuclear F-actin safeguards embryonic development. *Cell Rep.* 31:107824 (2020)
6. Higuchi C, Yamamoto M, Shin SW, *Miyamoto K, *Matsumoto K. Perturbation of maternal PIASy abundance disrupts zygotic genome activation and embryonic development via SUMOylation pathway. *Biol Open.* 8:bio048652 (2019)

学会発表（招待講演 国内 10 件、国際 0 件）：

1. Shimamoto Y. “Biophysical approaches to elucidate the principle of spindle assembly in cell division” 43rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Online, Dec. 2020

一般向けアウトリーチ活動：

1. 島本勇太「真核生物の遺伝子動態を制御する細胞のメカノケミストリー」Online, 2020年11月

●計画研究3：青木 不学●

雑誌論文（原著論文5件、総説0件）：

1. Kawamura M, Funaya S, Sugie K, Suzuki MG, *Aoki F. Asymmetrical deposition and modification of histone H3 variants is essential for zygote development. *Life Sci Alliance*. in press (2021)
2. Sugie K, Funaya S, Kawamura M, Nakamura T (公募班), Suzuki MG, *Aoki F. Expression of Dux family genes in early preimplantation embryos. *Sci Rep*. 10:19396 (2020)
3. Yuzawa T, Matsuoka M, Sumitani M, Aoki F., Sezutsu H, *Suzuki MG. Transgenic and knockout analyses of Masculinizer and doublesex illuminated the unique functions of doublesex in germ cell sexual development of the silkworm, *Bombyx mori*. *BMC Dev Biol*. 20:19 (2020)

●計画研究4：塩見 春彦●

雑誌論文（原著論文8件、総説0件）：

1. Hasuwa H, (略), Sasaki H, *Siomi H. Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters. *Nat Cell Biol*. in press (2021)
2. Ishino K, Hasuwa H, (略), Siomi MC, Morishita S, *Siomi H. Hamster PIWI proteins bind to piRNAs with stage-specific size variations during oocyte maturation. *Nucleic Acids Res*. 49: 2700-2720 (2021)
3. Murano K, Iwasaki YW, (略), Siomi MC, *Siomi H. Nuclear RNA export factor variant initiates Piwi-piRNA-guided co-transcriptional silencing. *EMBO J*. 38:e102870 (2019)
4. Yamanaka S, Nishihara H, (略), Sasaki H, *Siomi H. Broad heterochromatic domains open in gonocyte development prior to *de novo* DNA methylation. *Dev Cell*. 51:21-34.e5 (2019)

学会発表（招待講演 国内8件、国際5件）：

1. Siomi H. “Golden hamster as a new model to study the PIWI-piRNA pathway in mammals” Cold Spring harbor Laboratory meeting on Regulatory & Non-coding RNAs, Online, May. 2020

●計画研究5：井上 梓・山口 新平（分担）●

雑誌論文（原著論文7件、総説0件）：

1. Hagihara Y, (略), Nakano T, *Yamaguchi S. Tet1 regulates epigenetic remodeling of the pericentromeric heterochromatin and chromocenter organization in DNA hypomethylated cells. *PLoS Genet*. 17: e1009646 (2021)
2. Mei H, Kozuka C, Hayashi R, Kumon M, Koseki H, *Inoue A. H2AK119ub1 guides maternal inheritance and zygotic deposition of H3K27me3 in mouse embryos. *Nat Genet*. 53:539-550 (2021)
3. Chen Z, Yin Q, Inoue A., Zhang C, *Zhang Y. Allelic H3K27me3 to allelic DNA methylation switch maintains noncanonical imprinting in extraembryonic cells. *Sci Adv*. 5:eaay7246 (2019)

学会発表（招待講演 国内12件、国際6件）：

1. Inoue A. “Variant PRC1-mediated H2A mono-ubiquitination ensures maternal inheritance of H3K27me3” Austrian Acad. Sci. Gregor Mendel Institute of Molecular Plant Biology, Online, May. 2020
2. Yamaguchi S. “Stress-dependent activation of p53 induces the transition to 2-cell embryo-like state of mouse ESC” International Symposium on Epigenome, Tokyo, Feb. 2019

○公募研究：大杉 美穂○

雑誌論文（原著論文1件、総説0件）：

1. Totsuka T, *Ohsugi M. Production of mouse androgenetic embryos using spindle perturbation. *Sci Rep*. 10:6556 (2020)

○公募研究：深谷 雄志○

雑誌論文（原著論文3件、総説0件）：

1. *Fukaya T. Dynamic regulation of anterior-posterior patterning genes in living *Drosophila* embryos. *Curr Biol*. 31:2227-2236 (2021)
2. Yokoshi M, Segawa K, *Fukaya T. Visualizing the Role of Boundary Elements in Enhancer-Promoter Communication. *Mol Cell*. 78:224-235.e5 (2020)

学会発表（招待講演 国内0件、国際1件）：

1. Fukaya T. “Regulation of transcriptional bursting by core promoter elements” EMBL Conference Transcription and Chromatin, Online, Aug. 2020

○公募研究：栗原 大輔○

雑誌論文（原著論文5件、総説0件）：

1. Susaki D, Suzuki T, Maruyama D, Ueda M, *Higashiyama T, *Kurihara D. Dynamics of the cell fate specifications during female gametophyte development in Arabidopsis. *PLoS Biol.* 19:e3001123 (2021)
2. *Kurihara D, Mizuta Y, Nagahara S, Higashiyama T. ClearSeeAlpha: Advanced optical clearing for whole-plant imaging. *Plant Cell Physiol.* pcab033 (2021)

○公募研究：依馬 正次○

雑誌論文（原著論文 11 件、総説 0 件）：

1. Matsumoto S, Porter CJ, (略), Ema M, Perkins TJ, Stanford WL, *Tanaka S. Establishment of macaque trophoblast stem cell lines derived from cynomolgus monkey blastocysts. *Sci Rep.* 10:6827 (2020)

○公募研究：黒木 俊介○

雑誌論文（原著論文 4 件、総説 0 件）：

1. Miyawaki S, Kuroki S, Maeda R, Okashita N, Koopman P, *Tachibana M. The mouse Sry locus harbors a cryptic exon that is essential for male sex determination. *Science.* 370:121-124 (2020)
2. Kuroki S, Maeda R, Yano M, Kitano S, Miyachi H, Fukuda M, Shinkai Y, *Tachibana M. H3K9 Demethylases JMJD1A and JMJD1B Control Prospermatogonia to Spermatogonia Transition in Mouse Germline. *Stem Cell Reports.* 15:424-438 (2020)

○公募研究：橋本 昌和○

雑誌論文（原著論文 1 件、総説 1 件）：

1. Hashimoto M, *Sasaki H. Cell competition controls differentiation in mouse embryos and stem cells. *Curr Opin Cell Biol.* 67:1-8 (2020)（総説）

○公募研究：原 昌稔○

雑誌論文（原著論文 1 件、総説 2 件）：

1. Ariyoshi M, Makino F, (略), Hara M, *Fukagawa T. Cryo-EM structure of the CENP-A nucleosome in complex with phosphorylated CENP-C. *EMBO J.* 40:e105671 (2021)
2. *Hara M, *Fukagawa T. Dynamics of kinetochore structure and its regulations during mitotic progression. *Cell Mol Life Sci.* 77:2981-2995 (2020)（総説）

○公募研究：原田 哲仁○

雑誌論文（原著論文 5 件、総説 0 件）：

1. *Ochiai H, Hayashi T, Umeda M, Yoshimura M, Harada A, (略), *Nikaido I. Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. *Sci Adv.* 6:eaa6699 (2020)
2. Handa T, Harada A, (略), *Ohkawa Y, *Kimura H. Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input. *Nat Protoc.* 15:3334-3360 (2020)

○公募研究：高岡 勝吉○

雑誌論文（原著論文 4 件、総説 0 件）：

1. *Mizuno K, (略), Takaoka K, Itabashi T, Iwane AH, Nakai J, Shiratori H, *Hamada H. Role of Ca²⁺ transients at the node of the mouse embryo in breaking of left- right symmetry. *Sci Adv.* 6:eaba1195 (2020)
2. Kawamura N, Takaoka K, Hamada H, (略), *Wada Y. Rab7-Mediated endocytosis establishes patterning of wnt activity through inactivation of Dkk antagonism. *Cell Rep.* 31:107733 (2020)

○公募研究：大保 和之○

雑誌論文（原著論文 2 件、総説 1 件）：

1. Kobayashi Y, Tomizawa SI, (略), Ogura A (計画班), *Ohbo K. Tsga8 is required for spermatid morphogenesis and male fertility in mice. *Development.* 148:dev196212 (2021)
2. Takada Y, (略), *Ohbo K, *Koseki H. Maintenance DNA methylation in pre-meiotic germ cells regulates meiotic prophase by facilitating homologous chromosome pairing. *Development.* 148:dev194605 (2021)

○公募研究：中村 肇伸○

雑誌論文（原著論文 2 件、総説 1 件）：

1. Furuta A, *Nakamura T. Lipid droplets are formed in 2-cell-like cells. *J Reprod Dev.* 67:79-81 (2021)
2. Sugie K, Funaya S, Kawamura M, Nakamura T, Suzuki MG, *Aoki F (計画班). Expression of Dux family genes in early preimplantation embryos. *Sci Rep.* 10:19396 (2020)

一般向けアウトリーチ活動：

1. 中村 肇伸「高大連携講座：再生医療研究の最前線～医療の未来を切り拓く研究～」長浜バイオ大学/模擬講義, 2020 年 11 月

○公募研究：関 由行○

雑誌論文（原著論文 1 件、総説 0 件）：

1. Yamamoto M, Suwa Y, Sugiyama K, Okashita N, Kawaguchi M, Tani N, Matsubara K, Nakamura A, *Seki Y. The PRDM14-CtBP1/2-PRC2 complex regulates transcriptional repression during the transition from primed to naïve pluripotency. *J Cell Sci*. 133:jcs240176 (2020)

○公募研究：京極 博久○

雑誌論文（原著論文 2 件、総説 0 件）：

1. *Hamazaki N, Kyogoku H, (略), Kitajima TS, Ito T, Leitch HG, *Hayashi K. Reconstitution of the oocyte transcriptional network with transcription factors. *Nature*. 589:264-269 (2021)
2. Yoshida S, Nishiyama S, Lister L, Hashimoto S, Mishina T, Courtois A, Kyogoku H, (略), *Kitajima TS. Prc1-rich kinetochores are required for error-free acentrosomal spindle bipolarization during meiosis I in mouse oocytes. *Nat Commun*. 11:2652 (2020)

○公募研究：石谷 太○

雑誌論文（原著論文 5 件、総説 0 件）：

1. Chee WY, (略), Ishitani T, Kajiwaru K, Nada S, Okano H, *Okada M. β -catenin-promoted cholesterol metabolism protects against cellular senescence in naked mole-rat cells. *Commun Biol*. 4:357 (2021)
2. *Nishina S, Hosono K, Ishitani S, (略), Ishitani T, Hotta Y, Azuma N. Biallelic CDK9 variants as a cause of a new multiple-malformation syndrome with retinal dystrophy mimicking the CHARGE syndrome. *J Hum Genet*. in press (2021)

○公募研究：本多 新○

雑誌論文（原著論文 1 件、総説 0 件）：

1. *Inoue K, Ogonuki N, Kamimura S, Inoue H, Matoba S, Hirose M, Honda A, Miura K, Hada M, Hasegawa A, Watanabe N, Dodo Y, Mochida K, *Ogura A (計画班). Loss of H3K27me3 imprinting in the Sfbmt2 miRNA cluster causes enlargement of cloned mouse placentas. *Nat Commun*. 11:2150 (2020)

学会発表（招待講演 国内 1 件、国際 1 件）：

1. Honda A. “Efficient Generation of KO/KI Rats Using IVF Embryos” WCC2021-World Congress of Cardiology 2021, Online, Mar. 2021

A02：全能性の制御と構築（デザイン）

●計画研究 6：新富 圭史●

雑誌論文（原著論文 1 件、総説 0 件）：

1. Shintomi K, *Hirano T. Guiding functions of the C-terminal domain of topoisomerase II α advance mitotic chromosome assembly. *Nat Commun*. 12:2917 (2021)

学会発表（招待講演 国内 5 件、国際 1 件）：

1. Shintomi K. “Making a chromosome from scratch: a powerful approach to dissecting mitotic functions of topoisomerase II” EMBO workshop – DNA topology and topoisomerases in genome dynamics, Les Diablerets, Switzerland, Sep. 2019

●計画研究 7：石内 崇士●

雑誌論文（原著論文 2 件、総説 0 件）：

1. *Ishiuchi T, Abe S, Inoue K, Yeung WKA, Miki Y, Ogura A (計画班), *Sasaki H. Reprogramming of the histone H3.3 landscape in the early mouse embryo. *Nat Struct Mol Biol*. 28:38-49 (2021)
2. Abe S, Nagatomo H, *Sasaki H, *Ishiuchi T. A histone H3.3K36M mutation in mice causes an imbalance of histone modifications and defects in chondrocyte differentiation. *Epigenetics*. in press (2020)

学会発表（招待講演 国内 4 件、国際 0 件）：

1. Ishiuchi T. “Reprogramming of the histone H3.3 landscape in the early mouse embryo” 43th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Online, Dec. 2020

●計画研究 8：岡江 寛明・大日向 康秀（分担）●

雑誌論文（原著論文 7 件、総説 1 件）：

1. Varberg KM, (略), Okae H, Arima T, Vivian JL, Grundberg E, *Soares MJ. ASCL2 reciprocally controls key trophoblast lineage decisions during hemochorial placenta development. *PNAS*. 118:e2016517118 (2021)
2. Shibata S, Kobayashi E, Kobayashi N, Oike A, Okae H, *Arima T. Unique features and emerging in vitro models of human placental development. *Reprod Med Biol*. 19:301-313 (2020) (総説)
3. Bhattacharya B, (略), Okae H, Arima T, *Paul S. Atypical protein kinase C iota (PKC λ /i) ensures mammalian development by establishing the maternal-fetal exchange interface. *PNAS*. 117:14280-14291 (2020)

4. Takahashi S, *Okae H, (略), *Arima T. Loss of p57KIP2 expression confers resistance to contact inhibition in human androgenetic trophoblast stem cells. *PNAS*. 116:26606-26613 (2019)

学会発表 (招待講演 国内 10 件、国際 0 件) :

1. Okae H. “Identification of an epigenetic barrier between human embryonic and trophoblast stem cells” The 93th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society, Online, Sep. 2020

●計画研究 9: 小倉 淳郎・日野 敏昭 (分担) ●

雑誌論文 (原著論文 23 件、総説 4 件) :

1. Loubalova Z, Fulka H, (略), *Ogura A, *Svoboda P. Formation of hamster’s spermatogonia and fertile oocytes requires piRNAs. *Nat Cell Biol.* in press (2021)
2. Kamimura S, (略), Miyamoto K (計画班), *Ogura A. Improved development of mouse SCNT embryos by chlamydocin analogues, class I and IIa histone deacetylase inhibitors. *Biol Reprod.* in press (2021)
3. *Ogura A, Matoba S, Inoue K. Epigenetic abnormalities associated with somatic cell nuclear transfer. *Reproduction*. 162:F45-F58 (2021) (総説)
4. Kobayashi Y, Tomizawa SI, (略), Ogura A, *Ohbo K (公募班). *Tsga8* is required for spermatid morphogenesis and male fertility in mice. *Development*. 148:dev196212 (2021)
5. Miura K, Matoba S, Hirose M, *Ogura A. Generation of chimeric mice with spermatozoa fully derived from embryonic stem cells using a triple-target CRISPR method for Nanos3. *Biol Reprod.* 104:223-233 (2021)
6. *Ishiuchi T (計画班), Abe S, Inoue K, Yeung WKA, Miki Y, Ogura A, *Sasaki H. Reprogramming of the histone H3.3 landscape in the early mouse embryo. *Nat Struct Mol Biol.* 28:38-49 (2021)
7. *Inoue K, (略), Honda A (公募班), Miura K, Hada M, Hasegawa A, Watanabe N, Dodo Y, Mochida K, *Ogura A. Loss of H3K27me3 imprinting in the Sfbmt2 miRNA cluster causes enlargement of cloned mouse placentas. *Nat Commun.* 11:2150 (2020)
8. Hirose M, Honda A (公募班), (略), *Yanagimachi R, *Ogura A. Acrosin is essential for sperm penetration through the zona pellucida in hamsters. *PNAS*. 117:2513-2518 (2020)
9. Matoba S, (略), Nakamuta N, *Ogura A. Paternal knockout of Slc38a4/SNAT4 causes placental hypoplasia associated with intrauterine growth restriction in mice. *PNAS*. 116:21047-21053 (2019)

学会発表 (招待講演 国内 9 件、国際 1 件) :

1. Ogura A. “What do we learn from somatic cell nuclear transfer (SCNT)?” 42nd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Fukuoka, Dec. 2019

書籍 :

1. 日野敏昭「卵管内の精子輸送メカニズム」中外医学社 実践 卵管学 2020 年 12 月

一般向けアウトリーチ活動 :

1. 小倉淳郎 YouTube「0.1mm に針を刺す」<https://www.youtube.com/watch?v=Q0ShEDRE0FE&t=4s>

●計画研究 10: 佐々木 えりか●

雑誌論文 (原著論文 29 件、総説 1 件) :

1. Park JE. *Sasaki E. Assisted reproductive techniques and genetic manipulation in the common marmoset. *ILAR J.* in press (2021) (総説)
2. Kishimoto K, Shimada A, (略), Takashima Y, *Sasaki E. Establishment of novel common marmoset embryonic stem cell lines under various conditions. *Stem Cell Res.* 53:102252 (2021)

学会発表 (招待講演 国内 5 件、国際 2 件) :

1. Sasaki E. “Editing the Non-Human Primate Genome” 52nd Society for the Study of Reproduction Annual Meeting, San Jose, Jul. 2019

○公募研究 : 伊藤 潤哉○

雑誌論文 (原著論文 3 件、総説 1 件) :

1. Kamoshita M, Fujiwara K, *Ito J, Kashiwazaki N. Highly successful production of viable mice derived from vitrified germinal vesicle oocytes. *PLoS One*. 16:e0248050 (2021)
2. Kawasaki Y, (略), *Ito J, Kashiwazaki N. Carboxylated ε-poly-L-lysine, a cryoprotective agent, is an effective partner of ethylene glycol for the vitrification of embryos at various preimplantation stages. *Cryobiology*. 97:245-249 (2020)

○公募研究 : 中馬 新一郎○

雑誌論文 (原著論文 1 件、総説 0 件) :

1. Anand D, (略), Chuma S, *Lachke SA. Genome-Wide Analysis of Differentially Expressed miRNAs and Their Associated Regulatory Networks in Lenses Deficient for the Congenital Cataract-Linked Tudor Domain Containing Protein TDRD7. *Front Cell Dev Biol.* 9:615761 (2021)

7 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。

		A01																A02													
		計画					公募											計画		公募											
		伊川 (篠原)	宮本 (島本)	青木	塩見	井上 (山口)	大杉	深谷	栗原	依馬	黒木	橋本	原	原田	高岡	大保	中村	関	京極	石谷	本多	新富	石内	岡江 (大日向)	小倉 (日野)	佐々木	伊藤	中馬			
A01	計画	伊川	技情材	技材	情				情材	技情材	情						技材					情	技材	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材		
		宮本	技情材		情													技情材						情	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材	
		青木	技材			情材												材						情	情						
		塩見		情																				材	情	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材	
		井上	情		情材		技情材				材	技情材												技情材	材	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材	
	公募	大杉					技情材																技情材	技情材							
		深谷				技情																				情					
		栗原	情材																												
		依馬	技情材																											技情	
		黒木					技情材						情								技情材					技情材					
		橋本	情																												
		原												技情材																	
		原田					技情																								
		高岡					技情																		技情材						
		大保					情																								
		中村	技材		材																										
関		技情材																													
京極										技情材																					
石谷																															
本多	情			情		技情材			技情																						
A02	計画	新富					技情材																								
		石内	技材		情	材	技情材																			材	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材
	公募	岡江		情			材																								
		小倉	技情材	技情材	情	情	技情材		情			技情材					技材									技情材	技情材	技情材	技情材	技情材	技情材
		佐々木	技情材																												
		伊藤	技情材				技情材																								
中馬	技情材																														

() 内氏名は分担者

技	技術提供：シーケンス解析、核移植クローン、顕微授精、核置換、ライブイメージング、細胞内物理解析など特殊な技術の提供	共同論文発表あり
情	情報提供：独自の未発表データや実験のノウハウの提供	共同論文投稿中
材	材料提供：ゲノム編集動物、オリジナル抗体、幹細胞樹立、カエル卵抽出用試料などの提供	

本領域は、全能性をキーワードに、様々な領域のヘテロな専門家集団からなることが最大の長である。現在まで、各班員の持つ特殊技術、情報、実験材料を通じて、きわめて活発な領域内連携が進んでいる(上図)。

さらに小倉、伊川らの総括班がこれらの連携の橋渡しや予算的支援を行い、共同研究を促進している。その結果、各班員間で技術提供、情報提供、材料提供を通じた緊密な共同研究が加速され、続々と成果が現れている。これらの連携体制により、実質2年弱の研究期間の間にすでに領域内共著論文が10報(同じ組み合わせで複数論文あり)発表され、他に4報が投稿中である(上図の□枠)。これまでの領域内連携により得られている成果の例を以下に示す。

- ・ 石内班 (A01 計画) - 小倉班 (A02 計画) : 微量クロマチン解析法を用いて、未受精卵および受精直後の卵子におけるゲノムワイドに均等なヒストンH3.3 分布を明らかにした (*Nat Struct Mol Biol* 2020)。
- ・ 小倉班 (A02 計画) - 本多班 (A01 公募) : 長年の謎であったクローン胎盤の巨大化が、刷込み型 miRNA クラスターの刷込み消去による過剰発現であることを明らかにした (*Nat Commun* 2020)。
- ・ 青木班 (A01 計画) - 中村班 (A01 公募) : Dux 遺伝子とその多くのパラログが同時に発現することにより、major zygotic gene activation が生じることを示した (*Sci Rep* 2020)。
- ・ 大保班 (A01 公募) - 小倉班 (A02 計画) : プロモーター上に精子・胚発生 H3K4me3 修飾をもたらす KMT2B の候補として精子完成に必須である Tsga8 を同定した (*Development* 2021)。
- ・ 小倉班 (A02 計画) - 岡江班 (A02 計画) : trophoblast stem cell (TS 細胞) に観察される大規模 H3K9me3 領域の役割を解明し、さらに初の TS 細胞由来のクローンマウスを作出した (論文投稿中)。
- ・ 伊川班 (A01 計画) - 島本 (宮本班 A01 計画) : 卵が精子核を卵核から遠ざけることで、極体として捨てられたり卵核に巻き込まれたりするリスクを減らしていることを明らかにした (論文投稿中)。

8 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（令和3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。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本研究領域では、若手研究者の育成に関して以下の取組を行っている。

若手研究集会の開催

・若手勉強会：本研究領域では、毎年夏に若手研究者が企画・主催する泊まり込みの若手勉強会を計画した。慣例として前年度の若手優秀発表者が主催者となり、総括班が後方支援を行うことで、若手の自主性を尊重した交流を活性化している。2019年度（初年度）は公開シンポジウムと合わせて実施し、参加者の投票により若手優秀発表者として**石内**を選出した。残念ながら、2020年度は幾度となく延期・開催を試みたがコロナ禍により実現できず、2021年4月に再々度、**石内**らが非ゲノム情報複製機構領域（中西 真代表）との合同開催（九大・百年講堂）を企画した。直前に新型コロナウイルス蔓延のために現地開催は断念し、オンライン開催に切り替えたが、100名を超える若手が参加者し、成功を収めた。なお2022年度は、東北地方での現地開催を予定しており、若手研究者が直接、顔を合わせての情報交換可能な場とする予定である。

- 自己紹介 webinar：2020年中止となった若手勉強会の代替策として若手の**井上**らが企画した。公募班員を含む全班員が発表と意見交換を行う Webinar シリーズ（計8回）として開催した。
- 論文徹底解説シリーズ：HPに掲載された顕著な業績論文の第一著者（若手）が論文を丁寧に解説し、参加者が納得できるまで質疑応答を行うことにより、その背景から意義まで理解を深めている。
- 若手交流 webinar：発表も参加も学生および若手研究者（博士取得後3年程度）だけに限定した webinar であり、真に若手だけの自由な討論と交流により、研究の楽しさや難しさを分かち合っている。

若手研究者の研究支援と育成

本領域では、発足時に35～41才の研究者を5人、計画班代表に選んだことが示すように、若手研究者の研究および独立に向けた支援に注力してきた。若手（39歳以下）の計画班代表の石内、井上、岡江、宮本および公募班の**栗原、深谷**が既に責任著者として論文を発表し、いずれも領域HPで顕著な業績として紹介されるなど、目に見えて成果が表れている。また、若手の優秀論文には、投稿料を支援することに加え、紹介記事をHPに掲載し、領域内外に向けた研究交流を推進している。なお、領域発足後に、**石内**が准教授就任内定、**宮本、宮田（伊川班）**が准教授昇任、**関**が教授昇任、**宮本**は日本学術振興会賞と日本学士院学術奨励賞、宮田（**伊川班**）は文部科学大臣表彰・若手科学者賞を受賞した。その他、各班においても若手研究者の育成に努めており、結果として10名の助教相当ポストへの就任、日本学術振興会PD9名、DC14名の採択など、顕著な成果が現れている。

若手研究者の海外派遣・交流支援

国際的に活躍する若手研究者の育成には論文発表だけでなく、海外学会での情報発信・交流も大切である。上記の若手勉強会の際に、優秀発表者に加え、優秀論文発表者を投票により選出し、海外派遣支援を計画した。しかし、新型コロナウイルス蔓延に伴い、初年度に選出された羽田（**小倉班**）は海外派遣できなかったため、本人の希望を優先し、異分野研究推進のためのバイオインフォマティクス講習会への参加を補助した。2020年度以降は、海外派遣が難しい状況が続いていることもあり、新しい国際交流の形として、海外学会オンライン発表の支援を開始した（若手12人が国際会議オンライン発表）。

若手研究者の共催シンポジウム講演

関連学会での若手発表主体の共催シンポジウム等を企画し、日本生化学会、日本繁殖生物学会、日本分子生物学会、日本細胞生物学会（予定）において、**井上、石内、宮本、新富、岡江**らが講演した。

人的流動性の促進

若手研究者の育成には、ポスト確保と人的流動による研究交流が不可欠である。本領域では、研究経費で研究員・ポスドク9名、事務・研究補佐員13名、学生RA9名（2年間延べ人数）などのポストを確保し、若手が研究に専念できる環境整備に努めている。また、若手のアカデミックポスト獲得を積極的に支援・斡旋しており、これまでに18名が外部ポスト（東京大学、京都大学、神戸大学、広島大学、千葉大学など）を得て異動するなど、人的流動性が活性化されている。

9 研究費の使用状況・計画

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

研究費の使用状況

現在まで、研究費は領域研究の遂行のために適切に使用されている。各項目の使用状況は以下の通りである。

物品費：計画研究班において初年度は、比較的高額な設備備品費として、試料保存用のディープフリーザーや液体窒素タンク、胚操作用マニピュレーター、共焦点レーザー顕微鏡のグレードアップやその付属品、オールインワン顕微鏡、次世代シーケンサーデータ解析用のハイスペック PC など、本領域の研究遂行に必須な機器に用いられた。消耗品は、通常の試薬・抗体・プラスチック製品に加えて、シーケンス用の試薬など解析用試薬に多くの班で比較的多く予算が用いられている。マウスなど実験動物は、飼育スペースの制限によって自家繁殖は難しいため、ブリーダーからの購入に予算を充てている。●今後の計画：大型の設備備品費の購入予定はないが、いずれの班員もディープフリーザーや PCR 機などで老朽化機器の更新問題を抱えており、試料損失などの事故が生じる前に買い換えを進める予定である。

旅費：当初数十万～百万円の支出が見込まれていたが、コロナウイルス感染により国内外の出張が大きく減少し、特に令和2年度は、各班で実支出が0円～数万円程度であった。●今後の計画：コロナウイルス感染の状況が改善すれば、従来通り、学会やシンポジウムでの成果発表に予算を充てたい。

人件費・謝金：計画・公募班において、研究員・ポスドク9名、事務・研究補佐員13名、学生 RA9名（2年間延べ人数）が雇用されている。●今後の計画：令和3年度より伊川班と青木班で新たに雇用を進めるなど、本領域の後半活動のスピードアップのために有効に予算を使用する予定である。

その他：いずれの研究班においても、論文掲載費の高騰により多くの予算が使われている。次世代シーケンサーデータ解析を行う班では、シーケンスの外注費にも多額の予算が充てられている。●今後の計画：いずれの支出も本領域の成果と密接に関わるので、これまで以上に予算を充てる予定である。

研究費の効果的使用の工夫

総括班における研究支援活動の一環として、**伊川**による遺伝子操作動物作製、**小倉**による核移植クローンや顕微授精、**石内**の次世代シーケンサーデータ解析などへの費用負担を行っている。例えば遺伝子操作動物作製は外注も可能であるが、領域内への作製サービスであれば、1系統あたり数十万円の節約になる。●今後の計画：これまでの研究支援を進めるとともに、新たに、需要が高まっている**日野（小倉班）**のマウス染色体ペインティング（chromosomal FISH）による染色体同定や異常解析、および**篠原（伊川班）、岡江、大日向（岡江班）**の幹細胞樹立にも総括班の研究支援を広げる予定である。

総括班は、国際交流活動支援も行っているが、現在、世界的なコロナウイルス感染の影響により海外現地での学会開催や研究者の直接的交流の機会は激減している。●今後の計画：海外学会が web 開催になった際に、特に若手研究者の参加費の補助などを行うなど、柔軟に対応していく予定である。

なお、総括班費の大きな支出として、令和3年度に予定されている国際公開シンポジウムの開催費用がある。すでに日程（2022年2月16-18日）と会場（九州大学）は決定しており、招待演者候補リストも作成しているが、コロナウイルス感染の影響を考慮し、例えば海外講演者は web 参加にするなど、安全かつ予算の効果的使用のための最善の工夫を行う。

また、班員間の情報交換により研究費の節約や効率的な使用も行っている。例えば、各種試薬や市販抗体、シーケンス外注先、解析ソフトウェアなどについては常に情報交換を行い、本領域全体で予算使用と研究の効率化に努めている。

設備等の活用状況

それぞれの研究班において、既存および新規購入の設備は有効活用されている。また、可能な限り、高価な機器を共通で融通し合っており用いている。例えば、宮本班内の宮本-島本の間、そして小倉班-佐々木班の間で、マイクロマニピュレータ付き倒立顕微鏡を一部共通で用いている。

10 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「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2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後公募する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

本領域研究は、ここまでほぼすべての各研究班が順調に成果を挙げており、一部には予想以上の成果も上がっている。以下の方策により、領域活動の後半においても研究をさらに推進し、革新的・創造的な学術研究の発展をめざす。

総括班を中心とした領域全般の運営について

領域活動の発展には、総括班の強力なサポートが必須である。以下を重点的に進めたい。

- ①研究支援：ゲノム編集マウス作出（伊川）、核移植等の発生工学技術（小倉）、次世代シーケンサー解析（石内、井上）の予算的支援をこれまで通り進めるとともに、需要が高まっている染色体解析（chromosomal FISH）（日野）と幹細胞樹立（篠原、岡江、大日向）も追加する。その他、班員間で個人的にサポートをしている技術についても的確に把握し、必要に応じて十分な予算的支援していきたい。
- ②国際活動支援：コロナ感染の影響が続いても進められる班員の人的ネットワークを利用した国際共同研究支援、国際情報発信、国際 web 学会参加をサポートしていく。令和3年度は、九大 佐々木裕之特別推進研究との合同で国際公開シンポジウム（2022年2月16-18日、九大百年講堂）を開催する。開催形式にかかわらず、多くの海外からの著名な講演者を招待し、多くの国際共同研究の端緒としたい。
- ③若手育成支援：領域活動もいよいよ後半に突入し、次世代にバトンタッチをしてさらなる関連領域の発展を促す必要がある。本領域は当初から計画班代表者の半数（5人）が若手でスタートをした優位性を生かし、多くの若手中心の活動を進めている。令和3年度から始まった若手みの web セミナーもその一つである。2回にわたり成功を収めた若手勉強会も引き続き開催する予定である。他の研究室や公募研究にも有望な若手が数多くいるので、彼ら彼女らを巻き込み、さらに切磋琢磨させ、独創的な研究の芽を育てたい。

領域研究の推進について

本領域では、計画研究および公募研究の各班員がそれぞれの専門性を生かして、全能性プログラムの解明（研究項目 A01）および再構築（研究項目 A02）を目指している。しかし同時にそれぞれの班員が研究項目あるいは計画・公募研究の枠を越えて連携し、新たな相乗作用を作り出している。以下、この2年で見えてきた新たな研究の枠組みを示し、それぞれの今後の推進方策を述べる。公募班に期待する課題にも触れた（二重下線）。

- ①全能性の普遍的原理の解明：全能性の定義にはやや幅があるが、多能性との大きな違いは、胚体以外も含む発生に関わるすべての器官へ分化する能力である。その普遍的原理の解明は、本領域の究極的な目標である。全能性は、細胞生化学的に多階層の特性の集合体であると考えられ、本領域では、その一つ一つを明らかにしている。すなわち、石内の受精卵特異的ヒストン H3.3 の分布パターン、青木の胚性遺伝子活性化に至る制御、宮本の前核特異的アクチン、新富のトポイソメラーゼ II α などである。今後もこれら各階層の特性を明らかにする一方で、種を越えた普遍性を追求する必要がある。例えば、栗原は植物においても卵子が発生の初期状態にあることを証明している。今後、秘められている同じ階層での共通性を明らかにし、全能性の理解につながられるように活動を進めたい。この問題の解決には、さまざまな生物種の専門家である公募班の活躍が必須である。また、受精卵だけでなく、全能性の理解には、胚体と胚体外組織（哺乳類では胎盤）の関係性も重要である。例えば井上は、マウス卵子で確立するポリコム複合体の制御がその後の胚体と胎盤発生の関連を制御していることを明らかにした。これは興味深いことに、植物の卵子におけるポリコム複合体の胚乳（胚体外組織）発生の制御と類似している（図1）。今後もこのような収斂進化的な例を追い求めたい。

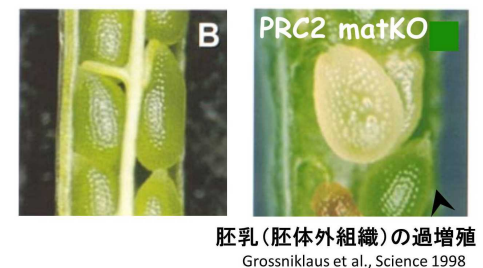
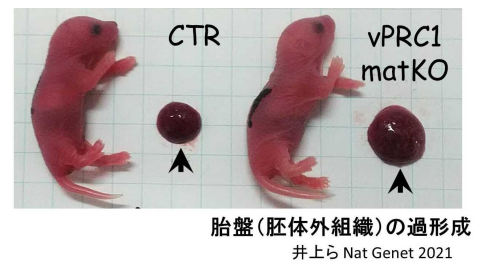


図1. マウス(上)およびシロイヌナズナ(下)において、母性のポリコム複合体(PCR)ノックアウトで胚体外組織が大きくなる共通性が見つかった。

本領域では、以上の様に、高度な各論研究の地道な積み重ねを共通原理へとつなげ、最終的に全能性の普遍的原理の解明をめざす学術研究を発展させる予定である。

②ゲノム再プログラム化による全能性の獲得メカニズムの解明：核移植クローンによりドナーゲノムが獲得する全能性状態は、ほぼ受精卵の全能性状態と同等である。受精卵あるいは核移植クローン胚がどのようなメカニズムで全能性を獲得するのか、生殖サイクルを理解する上でも、また生命の始まりを理解する上でも非常に重要な命題である。**小倉、佐々木**のクローン実験系、**新富、宮本**の卵抽出液を用いた *in vitro* 解析系が重要な役割を果たしているが、ここに微量 ChIP-seq や multiomics 解析の応用や微量のタンパク質の相互作用解明を組み合わる必要がある。現在の**原田**を含めた**公募班**あるいは外部の専門家と強力に推進したい。また、**伊川**の網羅的なノックアウト戦略でも重要な母性（卵子）因子が見つかるよう推進したい。なお、受精を越えて胚発生に機能する母性因子および父性因子については、それぞれ**公募班**の**黒木、大保**が解析を進めているが、ここでもさらに多くの**公募班**の応募に期待したい。

③新たな実験・解析モデルを用いたメカニズムの探求：①の普遍性とはまた逆に、適切な実験モデルを用いることによって初めて分子機構が明らかになることがある。その典型例が、**小倉**や**塩見**が用いているハムスターを用いた *in vivo* 解析である。本領域では、それぞれ、精子アクロシンおよび卵子における PIWI タンパク質の役割を初めて明らかにすることに成功しており、その対象をさらに広げていく。また、マーモセットも霊長類の実験モデルとして重要である。**佐々木**と**小倉**の共同研究により順調にマーモセット発生工学の技術開発（顕微授精および核移植クローン）は順調に進んでおり、世界初のクローンマーモセットの作出を目指したい。細胞レベルのモデルでは、ES 細胞由来の 2 細胞期胚様細胞（2-cell-like cell, 2CLC）の利用も注目している。本領域では**石内、関、中村**が独自の視点から研究を続けている。2 細胞期胚のモデルとして、新たな初期発生に関わるメカニズムの解明のための解析研究も重要視し、**公募班**も含めた領域研究一丸となって進めたい。その目的のために、2021 年 6 月 14 日に関係者で zoom meeting を開催し、2CLC からの全能性細胞の樹立も含めた最新の情報共有および研究の方向確認を行った。また、TS 細胞も胚体外系列研究に必須な細胞モデルである。TS 細胞を用いた胚体外系列のエピゲノム特性（**小倉**）、品質向上による完全人工胚盤胞の作成（**大日向（岡江班）**）、ヒト・霊長類における胚体・胚体外系列の相互連関（**岡江、依馬**）が順調進んでいるが、ES 細胞を用いた胚体外系列の研究に比べて多くの面で情報が不足しており、特にヒト TS 細胞については、信頼性の高い樹立法が 2018 年に**岡江**らにより報告されたばかりである。胚体外系列の一層の理解のために、より高品質のマウス・ヒト TS 細胞の樹立とその詳細なエピゲノム・細胞学的解析を進める必要がある。また、**深谷**のショウジョウバエ初期胚の新生 RNA のライブイメージング技術は、説得力のある優れた視覚化による成果である。同様に、今後も**公募班**で同様に優れた解析系の参画が重要である。

今後公募する公募研究の役割について

計画研究の開始から約 2 年が経過し、強力かつ予想以上に進展している研究課題も多くある一方で、上記のようにやや遅れている部分や新たに力を入れるべき部分も見えて来た。公募研究では、それらを補うとともに、新しい視点からのアプローチ研究も取り入れたい。解析研究を進める研究項目 A01 では、特に全能性獲得やゲノム再プログラム化に関わる母性（卵子）因子と着床前後の胚体および胚体外のエピゲノムに優れた提案が望まれる。応用研究を進める A02 では、特にゲノム再プログラム化のメカニズムと 2 細胞期胚様細胞や全能性核の分子機構の解明をめざす研究が必要である。また、いずれの研究項目においても、計画研究にはない哺乳動物以外の生物種を用いた全能性に関連した研究や、全能性の解明に関わる独創的な技術開発を受け入れたい。また、当然のことながら、限られた予算的資源でのサポートであるので、単に研究レベルや独創性の点だけでなく、真に「全能性プログラム」領域研究の盛り上がりにつながるかどうかを公募研究選考の重要なポイントとしたい。

これらにより、全能性の各階層の特性さらにその普遍的原理の理解に近づける研究体制を構築する。

11 総括班評価者による評価

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

本研究領域では、国内外8人の総括班評価者（外部アドバイザー）が総括班の研究協力者として、総括班会議やシンポジウム等の機会において本領域の運営について科学的な視点からアドバイスを頂いている。それをもとに総括班は本研究領域の研究の進め方や支援体制を策定し、領域活動を推進している。本中間評価報告書は日本語であるため、以下の国内の5人の評価者からコメントを頂いた。なお、海外の評価者からは、2022年2月に開催される国際シンポジウムにご参加頂いて進捗状況をご覧頂き、評価コメントを頂く予定である。

石野史敏・東京医科歯科大学・名誉教授

生物学の重要課題でありながら、これまでアプローチが難しかった「受精の全能性」というテーマを掲げたチャレンジングな領域であるが、近年、発達の著しい受精卵・初期胚のゲノム・エピゲノム解析技術を取り入れることで、先進的な内容でかつ良質な研究を展開することに成功している。計画班、公募班での論文発表も高いレベルにあり、研究内容も、精子、卵子由来の重要因子の同定や生殖サイクルのスタート時のエピジェネティック変化の多くが浮き彫りになってきていること、ゲノム内転移因子の初期発生における重要性を明らかにしたこと、体細胞クローニングの発生における問題点の原因解決に向けた研究が成果を上げていることなどの成果が挙げられている。それに加えて、今後の全能性解明に重要になる可能性のある発見も数多く見受けられるため、残りの研究期間でのさらなる発展が期待される。また、これらの研究の多くが領域内の共同研究によって出てきている点も大きく評価できる点である。

斎藤通紀・京都大学 医学研究科 生体構造医学講座 機能微細形態学分野・教授

本新学術領域研究は、あらゆる細胞・組織を形成する受精卵の能力、即ち「全能性」を保証するメカニズムの理解とその応用を目的とする。顕著な成果として、受精卵における核アクチンの機能解析（宮本）、初期胚における転移因子の役割の解明（塩見）、胎盤特異的ゲノム刷り込みにおける非典型ポリコーム複合体の役割の解明（井上・山口）、全能性胚転写状態構築におけるヒストンバリエーションの役割の解明（石内・小倉）、全胞状奇胎からのTS細胞樹立（岡江・大日向）、クローンマウス巨大胎盤症の原因解明（小倉）、精母細胞を用いた顕微授精の効率化（小倉・京極）等が挙げられ、研究の進展は明白であり、また今後の発展が期待される予備的成果も多い。若手の活躍が顕著で、コロナ禍においてもwebinarを用いて国内外における活発な情報交換が図られている。「全能性とは何か」の一端を一目で理解出来るモデルを本研究班で作成出来れば素晴らしい。

相賀裕美子・国立遺伝学研究所 系統生物研究センター 発生工学研究室・教授

全能性というテーマは誰もが興味をもつ昔から注目をされていたテーマであったが実際にアプローチすることが非常に困難であった。実際体細胞の核を移植することにより受精卵と全く同じ能力を獲得させるクローン技術、すなわち全能性を獲得させる実験系は存在していた。さらに受精卵とそれから発生してくる他の細胞がその全能性を失っていく過程も現象論的には非常によく理解されているところであるが、それを制御する分子実態と言うのは明らかになっていなかった。この分野の推進を可能にしたのは、最近のゲノム解析技術また微量な材料からのオミックス技術の著しい進化に伴って多くの情報収集が可能になった事実も貢献するが、領域代表者である小倉氏自身が培ってきたこれまでの多くの知見や技術を基盤としてこの領域を誕生させたということが、本当にタイムリーであった。この領域の推進を可能にしているもう一つの要因は、これまで脈々と蓄積されてきた生殖細胞系列の研究成果、またその成果を生み出してきた実際の戦力であった若手が次世代を担う研究代表者として台頭してきたことが大きな力となったと考えられる。中間報告と言うことであるが既に全能性を規定するようなメカニズムに直接つながるような発見というのがいくつも報告できており論文化されていると言うのは非常に驚くべきことである。領域代表を中心とした総括班による統率また推進戦略も素晴らしい。実働を伴う共同研究が困難なこのコロナ禍にあってこれだけの共同研究が進められたと言うのは総括班の気配りがあったことであると考えられる。多くの成果があるので、一つ一つをここでピックアップして述べないが、この調子でいけば、全能性を規定する因子群の同定、その操作や制御による、応用研究が見えてく

るのではないか。すでに、マーマセット等の実験系を導入して解析していることや、植物をも含めた普遍性の理解に努めていることは高く評価できる。しかし海外でも同様な研究が加速されているのも事実なので、今後も引き続き日本初の多くの成果が発信され世界をリードした全能性領域になることを期待する。

須田年生・熊本大学 国際先端医学研究機構・卓越教授

新学術領域研究「全能性プログラム」は、①全能性プログラムの解析と②その制御と再構築を柱とする構成である。①の基礎と②の応用のあいだに緊密な研究協力があり、また、計画研究に相補的な公募研究が加わり、この3年間、きわめて順調に展開し、その成果をあげていると言える。本領域における次世代研究者も台頭しており、経験ある研究者との協力関係も良好である。公募研究では、多様なテーマが採択されていて、この中から次世代の研究が萌出することが十分に期待される。

一方で、国際的にも、全能性を有する2-4細胞期の解析が進展しており、全能性細胞株の樹立や Splicing 制御による全能性から多能性への移行などの発見がみられる。コロナ下ではあるが、ビデオなどによる国際会議を計画し、本領域研究の優れた成果を発出することが望まれる。

仲野 徹・大阪大学 医学系研究科 幹細胞病理学・教授

研究領域全体としては、班員相互の共同研究が活発におこなわれており、井上のヒストン修飾と胎盤発生の研究 (Nature Genetics 2021) や伊川によるルミクリン機構の解明 (Science 2020) など、若手班員を含む計画班員を中心に優れた論文が発表されている。一方で、それに比較すると、公募班員からの論文発表がやや見劣りする感がある。ただ、採択後1年の状況なので、今後に期待したい。COVID-19 の状況下で、リモートでのミーティングが活発におこなわれていることは高く評価できる。全体として、共同研究や領域全体のチームワークなど、うまく運営されている。研究領域の後半は、計画研究のみでなく公募研究も、より全能性の研究に集中し、この領域から、全能性の本質的な問題に答えうるような誰もが納得できるインパクトの大きな研究が出されることが期待できる。