

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01417

研究課題名（和文）生細胞解析による転写制御におけるクロマチン修飾の意義の解明

研究課題名（英文）Elucidating the significance of chromatin modification in gene regulation by living cell imaging

研究代表者

木村 宏（Kimura, Hiroshi）

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授

研究者番号：30241392

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 32,700,000円

研究成果の概要（和文）：細胞が分化や外部からのシグナルに応答する際に遺伝子発現が変動する。本研究は、転写の活性化と不活性化におけるヒストン修飾の意義を理解するために、独自に開発した生細胞の翻訳後修飾可視化系を駆使した解析を行った。転写活性化においては、熱ショックストレス誘導性転写活性化にヒストンH3のアセチル化が重要であることを明らかにした。また、マウス胚性幹細胞の分化の過程で、X染色体が不活性化する際に、ヒストンH3とH4のメチル化が起こる様子を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、刺激に応答した遺伝子活性化過程や発生・分化過程におけるクロマチン修飾の時空間的变化を明らかにした。クロマチン構造変化と転写の制御は遺伝子発現の根幹を成しており、単一細胞レベルでの生細胞計測を中心とした解析により、この制御機構の一端を解明することができた。この基盤研究の成果は、高効率な脱分化系・分化誘導系の確立や薬物動態評価等の基盤技術開発にも将来的につながると考えられ、再生医療、生殖医療、薬剤開発等にも広く波及効果を及ぼすと期待できる。

研究成果の概要（英文）：Gene expression patterns exhibit dynamic changes as cells differentiate and respond to external signals. To understand the significance of histone modifications in transcriptional activation and inactivation, we conducted this study using a unique system for visualizing post-translational modifications in living cells. In transcriptional activation, we found that acetylation of histone H3 is important for heat shock stress-induced transcriptional activation. In addition, we showed how methylation of histone H3 and H4 accumulates during X-chromosome inactivation during mouse embryonic stem cell differentiation.

研究分野：細胞生物学・エピジェネティクス

キーワード：遺伝子発現 クロマチン ヒストン修飾 転写制御

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

真核生物の細胞核ゲノム DNA はヒストンと共にヌクレオソームと呼ばれる構造を基本単位とするクロマチンとして存在する。遺伝情報の発現には、転写因子の DNA への結合に加えてクロマチンや細胞核構造のレベルでの制御が重要であることがわかってきた。例えば、クロマチン免疫沈降と大規模塩基配列解析 (ChIP-seq) により、様々ヒストンの翻訳後修飾と遺伝子制御との関係がゲノム規模で明らかにされてきた (Kimura et al, J Hum Genet, 2013)。また、クロマチン間相互作用の解析により、細胞内におけるゲノムの 3 次元構造も明らかになりつつある。しかしながら、生細胞で転写やクロマチン構造のダイナミクスを解析する手法が限られていることなどにより、発生・分化・環境応答の際に、単一細胞でクロマチン構造がどのように変化し遺伝子発現が制御されるのか、という問題に関してはあまり解明が進んでいない。短期間で起こる刺激に応答した転写活性化から長期にわたって起こる染色体不活性化の確立など、転写の活性化や抑制、また、それらの記憶など、様々な現象を異なる時間軸で統合的に理解するには、細胞レベルから個体レベルまでの生細胞解析が重要となっている。

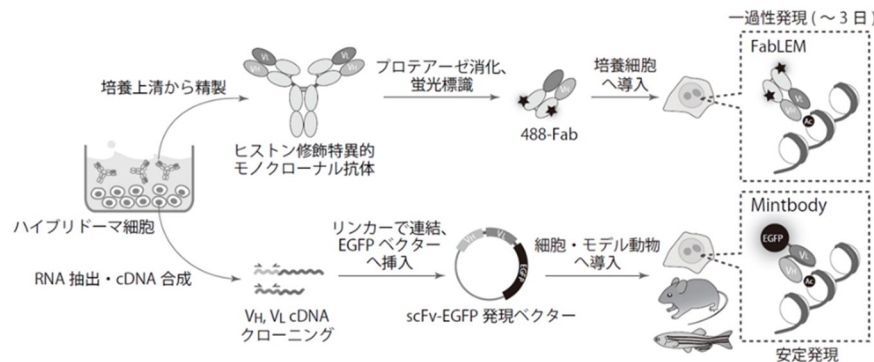


図1. 生細胞の内在性ヒストン修飾可視化法

研究代表者は、修飾特異的モノクローナル抗体由来のプロープを用いて、内在性のヒストンや転写を担う酵素である RNA ポリメラーゼ II の翻訳後修飾を生細胞で可視化・追跡する 2 つの系を開発してきた (図 1; Kimura et al, Histochem Cell Biol, 2015)。ひとつは、モノクローナル抗体から抗原結合断片 (Fab) を調製し蛍光標識したプロープを細胞に導入する FabLEM (Fab-based Live Endogenous Modification Labeling) 法である (Hayashi-Takanaka et al, JCB, 2009; NAR, 2011; PLoS One, 2014; Stasevich et al, Methods, 2014)。この方法は、ほとんどのモノクローナル抗体に適用可能であるが、観察時間が 1-3 日程度に限られる。もうひとつは、遺伝子コード型のプロープを発現させる方法である。この方法では、抗体を産生するハイブリドーマ細胞から抗体重鎖と抗体軽鎖の可変領域をコードする cDNA をクローニングし、蛍光蛋白質を融合した一本鎖可変領域抗体 (scFv; single-chain variable fragment) として発現させる。この mintbody (modification-specific intracellular antibody) と名づけた遺伝子コード型細胞内抗体を用いることで、長時間観察や動物個体の観察も可能になった (Sato et al, Sci Rep, 2013; JMB, 2016)。

これまでに、FabLEM により、ステロイドホルモン (グルココルチコイド) によるマウス乳がんウイルス (MMTV; mouse mammary tumor virus) プロモーターアレイの転写誘導系を用いて転写活性化のキネティクスを解析し、ヒストン H3 Lys27 のアセチル化 (H3K27ac) が転写の開始から伸長への移行を促進することを明らかにした (Stasevich et al, Nature, 2014)。この MMTV 遺伝子アレイ上では、ホルモン添加前から H3K4 のメチル化と H3K27 のアセチル化が見られ、転写活性化の準備ができていたクロマチン状態としての特徴を有していた。そこで、不活性クロマチンの転写活性化系として、熱ショックストレスによる Satellite 3 (Sat3) 領域の非コード RNA の転写活性化に着目した。この系では、通常の 37 °C の培養条件下では Sat3 領域は H3K9 がメチル化されているが、43 °C に温度を上昇させると H3K9 や H3K27 がアセチル化され、転写が活性化されることが分かった。

一方、mintbody に関しては、H3K9ac と H4K20me1 に特異的なプロープを発表してきたが、最近、H3K27 のトリメチル化 (H3K27me3) と伸長型 RNA ポリメラーゼ II の指標となる最大サブユニット C 末端ドメイン繰返し配列中の Ser2 リン酸化 (RNAP2-Ser2ph) に対する mintbody の候補が得られている。また、H3K9ac と H4K20me1 の mintbody を発現するノックインマウスも作製済みであり、これらの mintbody 発現細胞や発現個体を用い解析が可能となっている。

これらの独自の技術と近年可能になってきた CRISPR/dCas9 (ヌクレアーゼ活性のない Cas9) 融合蛍光蛋白質を用いたゲノム可視化技術、クロマチン操作技術を組み合わせることで、刺激と発生・分化に伴うクロマチン動態の解明を行うことが可能であるため、本研究を計画した。

## 2. 研究の目的

本研究は、転写活性化と不活性化におけるヒストン修飾の意義を理解するために、生細胞解析を中心として以下の点を明らかにすることを目的として行った。

(1) **転写活性化**: 熱ショックストレス誘導における転写活性化機構に着目し、培養細胞系を用いて転写因子の結合から転写伸長に至る過程のキネティクスを明らかにする。特に、ヒストン修飾、ヒストン交換、基本転写因子の動態を RNA ポリメラーゼ II の活性化と同時に生細胞計測を行うことで、転写活性化におけるそれぞれの関係性を明らかにする。さらに、熱ショックで転写誘導される領域のヒストン修飾やヒストン交換を人為的に制御して転写活性化を計測することで、ヒストンの修飾や動態の意義を明らかにする。

(2) **転写不活性化**: X 染色体の不活性化に着目し、培養細胞の分化系とマウス胚を用いて、不活性化に伴うヒストン修飾動態を明らかにする。X 染色体の不活性化の際におこる脱アセチル化、H3K27 トリメチル化、H4K20 モノメチル化の過程を生細胞観察により明らかにする。その際、CRISPR/dCas9-EGFP によるゲノム可視化系を併用し、あらかじめ X 染色体の一部を標識しておく。また、X 染色体上の複数の領域を同時に可視化し、染色体凝縮過程を追跡する。これらの計測結果を統合して解析することで、X 染色体不活性化に伴うクロマチン構造変化を単一細胞レベルで明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 熱ショックストレスにตอบสนองした内在性転写単位の活性化メカニズム

ストレスにตอบสนองした転写活性化におけるヒストン修飾の動態を解明するために、赤色蛍光蛋白質や HaloTag と融合した熱ショック転写因子 (HSF1-mCherry、HSF1-Halo) を発現する細胞に修飾特異的 Fab を導入し、その局在変化を解析する。

### (2) 細胞分化・脱分化に伴う X 染色体の不活性化と再活性化におけるクロマチン動態

雌のほ乳類体細胞では、遺伝子量補償機構として片方の X 染色体が不活性化する。この不活性化の過程で、ヒストン H3 と H4 の脱アセチル化、H3K27 のトリメチル化、H4K20 モノメチル化、プロモーター上の DNA 脱メチル化などが X 染色体上で大規模に起こることが知られている。そこで、mintbody プローブと CRISPR/dCas9 を用いたゲノム可視化技術を組み合わせ、長時間観察により、X 染色体不活性化に伴うクロマチン構造変化を明らかにする。

## 4. 研究成果

### (1) 熱ショックストレスにตอบสนองした内在性転写単位の活性化メカニズム

HSF1 が集積する Sat3) に局在化する dCas9-EGFP システムを構築し、さらに mCherry や HaloTag と融合した熱ショック転写因子 (HSF1-mCherry、HSF1-Halo) を発現する細胞を樹立した。この細胞の培養温度を 37 から 43 にシフトしたところ、Satellite III への HSF1 の集積が見られた (図 2A)。また、時間経過とともに Satellite III 領域が脱凝縮する様子も観察された (図 2A)。

HSF1-mCherry を発現する細胞に、ヒストン H3K27 アセチル化修飾特異的 Fab (H3K27ac Fab) と転写開始の指標となる RNA ポリメラーゼ II Ser5リン酸化特異的 Fab (RNAP2 Ser5ph Fab) を導入し、温度シフトによる Sat3 領域への集積を解析した。その結果、HSF1-mCherry の集積の次に H3K27ac が集積し、遅れて RNAP2 が活性化されることが分かった (図 2B)。この結果から、ヒストンのアセチル化が転写の活性化に働くことが示唆された。

そこで、dCas9 と酵素ドメインを融合したタンパク質を発現させ、Sat3 領域のヒストン修飾を変化させる系を構築した。ヒストン H3K9 の脱メチル化酵素 KDM4D を融合させると、H3K9 メチル化レベルが低下し、ヒストンアセチル化酵素である p300 のアセチル化酵素ドメインを融合させると 37 においても H3K27 のアセチル化が上昇した。このアセチル化された状態では、37 でも転写が起こることが分かった。また、熱ショックによる転写活性化の過程で脱凝縮した Sat3 領域は、熱ショック前に比べて運動性が増した。これらの結果は、ヒストンアセチル化が、転写活性化因子の結合を促進して転写活性化を誘導していることを示している。

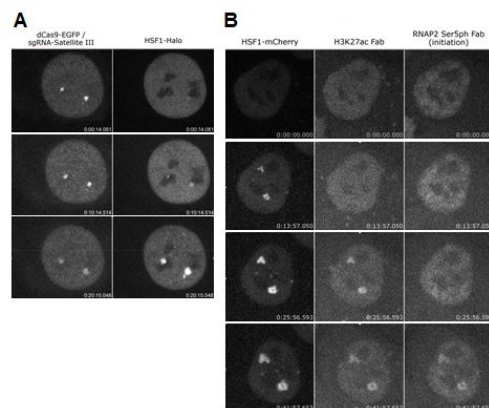


図 2. 熱ショックによる Satellite III 領域の転写活性化の生細胞解析

(A) dCas9-EGFP/sgRNA を用いて Satellite III (Sat3) 領域を可視化し、HSF1-Halo の集積をタイムラプスイメージングで確認した (時間: 分: 秒)。  
(B) HSF1-mCherry、H3K27ac Fab、RNAP2 Ser5ph Fab を同時に可視化した (時間: 分: 秒)。

## (2) 細胞分化・脱分化に伴う X 染色体の不活性化と再活性化におけるクロマチン動態

トリメチル化 H3K27 (H3K27me3) 特異的細胞内可変領域抗体 (Mintbody ; modification-specific intracellular antibody) を開発した (図 3)。この H3K27me3-mintbody は、H3K27me3 を特異的に認識するため、分化したマウス雌細胞に存在する不活性 X 染色体上に濃縮し、生細胞で不活性 X 染色体の動態解析に有用であることが分かった (図 3)。

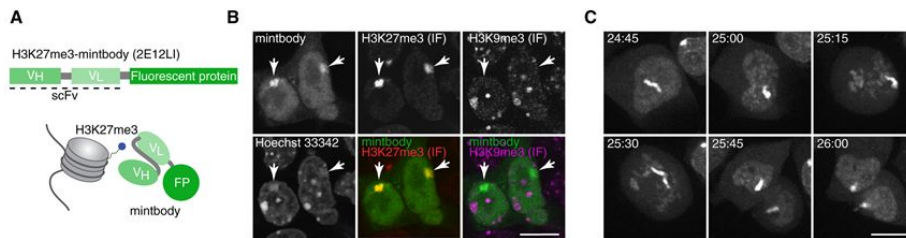


図 3. H3K27me3-mintbodyによる不活性X染色体の可視化

(A) Mintbodyの模式図。H3K27me3特異的な一本鎖可変フラグメント (scFv) を蛍光タンパク質 (FP) と遺伝的に融合させたもの。

(B) 免疫蛍光法 (IF) によるミントボディの特異性の検証。H3K27me3-mintbody (sfGFP) を安定的に発現しているマウスMC12細胞を、H3K27me3 (Cy5) およびH3K9me3 (Cy3) に特異的な抗体で標識した。DNAはHoechst33342で染色した。矢印は不活性X染色体を示す。

(C) H3K27me3-mintbody (sfGFP) を安定的に発現させた分裂中のMC12細胞のタイムラプスメージング。共焦点切片の投影画像を、経過時間 (hh:mm) とともに示す。スケールバー: 10 μm。

次に、細胞分化に伴う X 染色体の不活性化時のクロマチン動態を明らかにするため、X 染色体可視化系の開発を行った。CRISPR/dCas9-GFP によるゲノム可視化系を用いて、最大 4 箇所 の X 染色体領域を生細胞で可視化に成功することに成功した。しかし、標的の繰返し配列が低コピーであるため生細胞観察のためにはゲノム領域の明るさが十分ではなかった。そこで、super-folder GFP (sfGFP) を 3 回タンデムに繋いだ 3xsfGFP を用いることで、長時間のタイムラプス観察が可能な明るさを達成することができた。また、4 箇所の可視化では、2 本の X 染色体が近接した場合に、どちらの染色体由来のシグナルかを区別することが難しかったため、分化誘導系のタイムラプス観察には、X 染色体の 2 箇所を標識したマウス胚性幹細胞を用いた (図 4A)。

この細胞に H3K27me3-mintbody、または、H3K27me3-mintbody と H4K20me1-mintbody の両方を同時に発現させて、分化誘導に伴う X 染色体不活性化過程の解析を行った (図 4B)。

DXZ4 領域と Xist 領域の 2 箇所を同時に可視化し、2 点間距離を計測することで、染色体の凝縮度を評価することが可能となった。胚性幹細胞の培地から LIF を除いて細胞分化を誘導すると、一部の

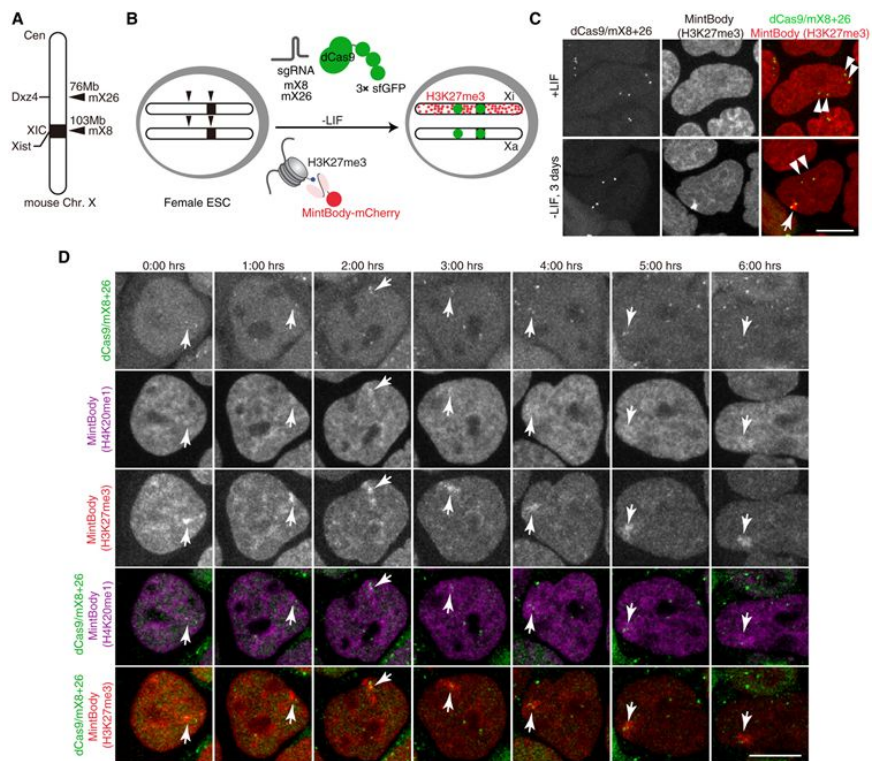


図 4. 不活性X染色体上へのヒストンメチル化の集積

(A) CRISPR/dCas9-3×sfGFPにより標識されるマウスX染色体上の遺伝子座。

(B) 実験系の模式図。雌の胚性幹細胞は、2つのsgRNA、dCas9-3xsfGFP、核局在化シグナル (NLS) 融合H3K27me3-mintbody (mCherry) を安定的に発現する。LIFの除去により分化が誘導されると、不活性化X (Xi) にH3K27me3の蓄積が起こるが、活性化X (Xa) には起こらない。緑色の斑点は、2つのX連鎖遺伝子座 (Dxz4とXist) を示す。

(C) 未分化状態 (+LIF) と分化誘導状態 (-LIF, 3 days) の雌胚性幹細胞のライブイメージング。二重矢頭はXa、一重矢頭はXiを示す。スケールバー: 10 μm。

(D) H3K27me3-mintbody (SNAP/JF646) およびH4K20me1-mintbody (mCherry) を発現するマウス胚性幹細胞を分化誘導した。矢頭はXiを示す。スケールバー: 10 μm。

細胞では両方の X 染色体アリル上に H3K27me3-mintbody が一過的に濃縮し、また、未分化状態時に比べて DXZ4 領域と Xist 領域の 2 点間の距離も短くなった。さらに分化が進むと、片方のアリルでは H3K27me3-mintbody の濃縮が見られなくなるとともにもう片方のアリルでの広がりも確認できた (図 4C)。この H3K27me3-mintbody の挙動は、Xist RNA と同様であり、細胞分化の初期課程では Xist 領域の近傍で一過性にヘテロクロマチンが形成されると考えられた。

さらに、H3K27me3-mintbody (mCherry) と H4K20me1-mintbody (SNAP) を同時に発現させて、それらの不活性 X 染色体への集積を解析した結果、H3K27me3 と H4K20me1 はほぼ同時に蓄積することが示唆された (図 4D)。

さらに、H4K20me1-mintbody 発現マウスを用いて、生殖細胞分化に伴うヒストン修飾動態の解析を行ない、H4K20me1 が XY ボディに濃縮するダイナミクスを明らかにした。

これらの結果から、転写活性化はヒストンのアセチル化を介して迅速に起こるのに対して、転写抑制に働くクロマチン構造の確立は比較的ゆっくりと進行することが考えられた。これは、エピジェネティクスの制御を理解するうえで非常に重要な知見である。刺激に応答した転写活性化が速やかに行われないと、細胞の生死や正常な発生に影響があるのに対して、転写抑制がゆっくりと起こったとしても、細胞の生存には影響しないと考えられる。また、発生や分化の過程では、転写された RNA の分解や翻訳制御によっても遺伝子発現が調節される。また、転写抑制がゆっくりと起こることで、活性状態に戻りうる可塑性を生じさせていることも重要であるかもしれない。

本研究では、刺激に応答した遺伝子活性化過程や発生・分化過程におけるクロマチン修飾の時空間的变化を明らかにした。クロマチン構造変化と転写の制御は遺伝子発現の根幹を成しており、単一細胞レベルでの生細胞計測を中心とした解析により、この制御機構の一端を解明することができた。この基盤研究の成果は、高効率な脱分化系・分化誘導系の確立や薬物動態評価等の基盤技術開発にも将来的につながると考えられ、再生医療、生殖医療、薬剤開発等にも広く波及効果を及ぼすと期待できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 17件/うち国際共著 10件/うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Shimi Takeshi, Kimura Hiroshi	4. 巻 218
2. 論文標題 A mosaic of old and young nucleoporins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 385 ~ 386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.201811170	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Harada Akihito, Maehara Kazumitsu, Handa Tetsuya, Arimura Yasuhiro, Nogami Jumpei, Hayashi-Takanaka Yoko, Shirahige Katsuhiko, Kurumizaka Hitoshi, Kimura Hiroshi, Ohkawa Yasuyuki	4. 巻 21
2. 論文標題 A chromatin integration labelling method enables epigenomic profiling with lower input	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Cell Biology	6. 最初と最後の頁 287 ~ 296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41556-018-0248-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okita Akiko K., Zafar Faria, Su Jie, Weerasekara Dayalini, Kajitani Takuya, Takahashi Tatsuro S., Kimura Hiroshi, Murakami Yota, Masukata Hisao, Nakagawa Takuro	4. 巻 2
2. 論文標題 Heterochromatin suppresses gross chromosomal rearrangements at centromeres by repressing Tfs1/TFIIIS-dependent transcription	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-018-0251-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Parry Aled J., Hoare Matthew, Bihary D?ra, H?nzel-Hertsch Robert, Smith Stephen, Tomimatsu Kosuke, Mannion Elizabeth, Smith Amy, D' Santos Paula, Russell I. Alasdair, Balasubramanian Shankar, Kimura Hiroshi, Samarajiwa Shamith A., Narita Masashi	4. 巻 9
2. 論文標題 NOTCH-mediated non-cell autonomous regulation of chromatin structure during senescence	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-04283-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sato Yuko, Stasevich Timothy J., Kimura Hiroshi	4. 巻 1861
2. 論文標題 Visualizing the Dynamics of Inactive X Chromosomes in Living Cells Using Antibody-Based Fluorescent Probes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 91 ~ 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8766-5_8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 TASHIRO Satoshi, KIMURA Hiroshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Nucleome Consortium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Seibutsu Butsuri	6. 最初と最後の頁 221 ~ 222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.58.221	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 佐藤優子、木村 宏	4. 巻 69
2. 論文標題 遺伝子不活性化マークを生細胞で観察できる蛍光プローブ	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 化学工業	6. 最初と最後の頁 589 ~ 594
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 木村 宏	4. 巻 36
2. 論文標題 共焦点レーザー走査顕微鏡 iii. FRAP/FLIP	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学増刊	6. 最初と最後の頁 50-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Parry Aled J., Hoare Matthew, Bihary D?ra, H?nseI-Hertsch Robert, Smith Stephen, Tomimatsu Kosuke, Mannion Elizabeth, Smith Amy, D' Santos Paula, Russell I. Alasdair, Balasubramanian Shankar, Kimura Hiroshi, Samarajiwa Shamith A., Narita Masashi	4. 巻 9
2. 論文標題 NOTCH-mediated non-cell autonomous regulation of chromatin structure during senescence	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-04283-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Chen Carol C.L., Goyal Preeti, Karimi Mohammad M., Abildgaard Marie H., Kimura Hiroshi, Lorincz Matthew C.	4. 巻 28
2. 論文標題 H3S10ph broadly marks early-replicating domains in interphase ESCs and shows reciprocal antagonism with H3K9me2	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Research	6. 最初と最後の頁 37 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/gr.224717.117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chung Chan-I, Sato Yuko, Ohmuro-Matsuyama Yuki, Machida Shinichi, Kurumizaka Hitoshi, Kimura Hiroshi, Ueda Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Intrabody-based FRET probe to visualize endogenous histone acetylation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-46573-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato Yuko, Hilbert Lennart, Oda Haruka, Wan Yinan, Heddleston John M., Chew Teng-Leong, Ziburdaev Vasily, Keller Philipp, Lionnet Timothee, Vastenhouw Nadine, Kimura Hiroshi	4. 巻 146
2. 論文標題 Histone H3K27 acetylation precedes active transcription during zebrafish zygotic genome activation as revealed by live-cell analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev179127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.179127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する



1. 著者名 Imada Takashi, Shimi Takeshi, Kaiho Ai, Saeki Yasushi, Kimura Hiroshi	4. 巻 26
2. 論文標題 RNA polymerase II condensate formation and association with Cajal and histone locus bodies in living human cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 298 ~ 312
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12840	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tjalsma Sjoerd J D, Hori Mayako, Sato Yuko, Bousard Aurelie, Ohi Akito, Raposo Ana Cl?udia, Roensch Julia, Le Saux Agnes, Nogami Jumpei, Maehara Kazumitsu, Kujirai Tomoya, Handa Tetsuya, Bag?s Arnal Sandra, Ohkawa Yasuyuki, Kurumizaka Hitoshi, da Rocha Sim?o Teixeira, ?ylicz Jan J, Kimura Hiroshi, Heard Edith	4. 巻 22
2. 論文標題 H4K20me1 and H3K27me3 are concurrently loaded onto the inactive X chromosome but dispensable for inducing gene silencing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e51989
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.202051989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Handa Tetsuya, Harada Akihito, Maehara Kazumitsu, Sato Shoko, Nakao Masaru, Goto Naoki, Kurumizaka Hitoshi, Ohkawa Yasuyuki, Kimura Hiroshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Protocols	6. 最初と最後の頁 3334 ~ 3360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41596-020-0375-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi-Takanaka Yoko, Kina Yuto, Nakamura Fumiaki, Becking Leontine E., Nakao Yoichi, Nagase Takahiro, Nozaki Naohito, Kimura Hiroshi	4. 巻 133
2. 論文標題 Histone modification dynamics as revealed by a multicolor immunofluorescence-based single-cell analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 jcs243444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.243444	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hilbert Lennart, Sato Yuko, Kuznetsova Ksenia, Bianucci Tommaso, Kimura Hiroshi, J?licher Frank, Honigmann Alf, Zaburdaev Vasily, Vastenhouw Nadine L.	4. 巻 12
2. 論文標題 Transcription organizes euchromatin via microphase separation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-21589-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujiwara Yusuke, Yamanashi Yuki, Fujimura Akiko, Sato Yuko, Kujirai Tomoya, Kurumizaka Hitoshi, Kimura Hiroshi, Yamatsugu Kenzo, Kawashima Shigehiro A., Kanai Motomu	4. 巻 118
2. 論文標題 Live-cell epigenome manipulation by synthetic histone acetylation catalyst system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2019554118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2019554118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Olan Ioana, Parry Aled J., Schoenfelder Stefan, Narita Masako, Ito Yoko, Chan Adelyne S. L., Slater Guy St.C., Bihary Do?ra, Bando Masashige, Shirahige Katsuhiko, Kimura Hiroshi, Samarajiwa Shamith A., Fraser Peter, Narita Masashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Transcription-dependent cohesin repositioning rewires chromatin loops in cellular senescence	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6049
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19878-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Gruszka D. T., Xie S., Kimura H., Yardimci H.	4. 巻 6
2. 論文標題 Single-molecule imaging reveals control of parental histone recycling by free histones during DNA replication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabc0330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abc0330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Uchino Satoshi, Ito Yuma, Sato Yuko, Handa Tetsuya, Ohkawa Yasuyuki, Tokunaga Makio, Kimura Hiroshi	4. 巻 4.27
2. 論文標題 Visualizing transcription sites in living cells using a genetically encoded probe specific for the elongating form of RNA polymerase II	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 441582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.04.27.441582	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計10件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Hiroshi Kimura
2. 発表標題 Chromatin modification dynamics during gene activation and inactivation in living cells
3. 学会等名 CSHL Meeting "Nuclear Organization & Function" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Kimura
2. 発表標題 Chromatin Modification Dynamics in Living Cells
3. 学会等名 Gordon Research Conference "Chromatin Structure and Function" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Kimura
2. 発表標題 Sensing Histone Modification and Transcription Dynamics in Living Cells
3. 学会等名 2nd Epigenetics and Bioengineering Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Kimura
2. 発表標題 Chromatin modification dynamics during gene activation in living cells and embryos
3. 学会等名 Joint Annual Meeting of JSDB 51st and JSCB 70th (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村 宏
2. 発表標題 クロマチン修飾ダイナミクス 生細胞イメージングとエピゲノム解析の融合に向けて
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村 宏
2. 発表標題 ヒストン修飾と転写の生細胞動態から捉えるクロマチンポテンシャル
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村宏
2. 発表標題 クロマチン修飾ダイナミクスと転写制御
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Kimura
2. 発表標題 Tracking histone and RNA polymerase II modifications in living cells using genetically encoded probes
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Kimura
2. 発表標題 Gene regulation and chromatin dynamics in living cells
3. 学会等名 The 79th of Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村 宏
2. 発表標題 転写活性化に伴うヒストンアセチル化とクロマチンのダイナミクス
3. 学会等名 第93回 日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ヒストンH3トリメチル化リシン特異的モノクローナル抗体又はその抗原結合性断片	発明者 木村 宏、佐藤優子、 大井彰人、胡桃坂仁 志、鯨井智也、他	権利者 東京工業大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-111580	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

東京工業大学 木村宏研究室  
<http://kimura-lab.bio.titech.ac.jp/>  
東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター  
<http://www.rcb.iir.titech.ac.jp/>  
東京工業大学 研究者情報  
[https://t2r2.star.titech.ac.jp/cgi-bin/researcherinfo.cgi?q\\_researcher\\_content\\_number=CTT100673940](https://t2r2.star.titech.ac.jp/cgi-bin/researcherinfo.cgi?q_researcher_content_number=CTT100673940)  
東工大 木村宏 研究室  
<http://kimura-lab.bio.titech.ac.jp/index.html>  
東工大 細胞制御工学研究センター  
<http://www.rcb.iir.titech.ac.jp/>  
東工大 木村宏 研究者情報  
[http://t2r2.star.titech.ac.jp/cgi-bin/researcherinfo.cgi?q\\_researcher\\_content\\_number=CTT100673940#](http://t2r2.star.titech.ac.jp/cgi-bin/researcherinfo.cgi?q_researcher_content_number=CTT100673940#)

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------