

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03703

研究課題名(和文) シングルセルエピゲノム解析による細胞の運命転換機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of cell-fate transition by single-cell epigenome analysis

研究代表者

玉田 洋介 (Tamada, Yosuke)

宇都宮大学・工学部・准教授

研究者番号：50579290

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：細胞の運命転換過程におけるエピゲノムの動態と、エピゲノムとトランスクリプトームがどのように相互作用して細胞の運命転換を駆動しているのかをシングルセルレベルで解明するため、クロマチン修飾やヒストンバリエーションといったエピゲノムの構成要素の細胞運命転換過程における単一細胞核4D(3D+時間)イメージングや、シングルセルトランスクリプトーム解析などを行った。その結果、傷害刺激による遺伝子制御ネットワークの変動により幹細胞化因子の発現が誘導され、それによって起きる細胞分裂を介してエピゲノムが大きく変動することで、幹細胞化が達成されることを示す結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多細胞生物の発生や再生には細胞の運命転換が不可欠である。細胞の運命転換にはトランスクリプトームとエピゲノムの両方が変動することが必須であるが、細胞運命転換過程におけるエピゲノムの動態や、トランスクリプトームとエピゲノムがどのように相互作用しながら細胞の運命転換を駆動しているのかについてはよくわかっていなかった。本研究では、ヒメツリガネゴケの幹細胞化を細胞の運命転換のモデルとしてトランスクリプトームとエピゲノムの動態や相互作用をシングルセルレベルで解明したもので、今後の細胞運命転換研究の基盤となるものである。

研究成果の概要(英文)：Purpose of the research is to understand the epigenome dynamics and the interaction between epigenome and transcriptome, which drive the cell-fate transition including the reprogramming from differentiated cells to stem cells. For this purpose, we performed single-nucleus 4D (3D + time lapse) imaging and single-cell transcriptome analyses during the reprogramming process of the moss *Physcomitrella patens*. Combined with previously performed ChIP-seq analyses of histone modifications H3K27me3 and H3K4me3, we found that, during the reprogramming process, the transcriptome actively changed during the reprogramming triggered by the physical damage, while the epigenome of the histone modifications did not largely change until the end of the reprogramming process. These data suggest that, at least for the reprogramming of *Physcomitrella*, the transcriptome changes first and then the epigenome of histone modifications changes toward the cell-fate change.

研究分野：発生生物学

キーワード：細胞の運命転換 エピゲノム シングルセル トランスクリプトーム イメージング

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

多細胞生物における多細胞体制の構築のためには、それぞれの細胞が適切なタイミングで分化し、特定の細胞運命を獲得する必要がある。また、生殖細胞形成過程や胚発生初期において、もしくは多能性因子の過剰発現や植物ホルモンの投与、また傷害などの外部刺激によって、一旦分化した細胞の運命が初期化され、多能性幹細胞へと変化する。こうした細胞運命の獲得や初期化、いわゆる細胞の運命転換の過程では、遺伝子制御ネットワーク (Gene regulatory network, GRN) とクロマチン修飾やヒストンバリエーションなどのゲノムワイドなプロファイル、いわゆるエピゲノムがともに変化する必要があると考えられている (e.g. Xu et al., 2016, Trends Cell Biol)。特に、エピゲノムによって安定な遺伝子発現プロファイルが形成されるため (e.g. Nashun et al., 2015, EMBO J)、エピゲノムは細胞運命を制御する最も重要な要因であると考えられる。しかしながら、細胞の運命転換過程におけるエピゲノムの動態や、エピゲノムと GRN との相互作用についてはほとんど明らかになっていなかった。

応募者はこれまでに、コケ植物ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) を用いて、細胞の運命転換過程におけるエピゲノム動態と、エピゲノムと GRN との相互作用を解析してきた。ヒメツリガネゴケは、単一の幹細胞が外部にむき出しで存在しており、幹細胞からの細胞分化の過程を詳細にイメージング可能である (Kofuji & Hasebe 2014, Curr Opin Plant Biol)。また、傷害刺激によって分化した葉細胞を容易に幹細胞へと運命転換できる (Ishikawa et al. 2011, Plant Cell; Li et al. 2017, Nat Commun) (図 1)。こうした利点をいかして、幹細胞化過程のトランスクリプトーム解析、クロマチン修飾 H3K27me3、H3K4me3 のエピゲノム解析を、次世代シーケンサーを用いて行った。その結果、トランスクリプトームは傷害刺激から幹細胞化までの間に常に変動していた一方、エピゲノム、特に H3K27me3 は幹細胞化の終盤まで大きな変動は観察されなかった。このことから、幹細胞化という細胞運命転換の過程において、「GRN が変動した後でエピゲノムが変動して細胞の運命が固定される」ことが示唆された。

この仮説を検証するためには、シングルセルレベルでエピゲノム解析を行う必要がある。しかしながら、一般的なエピゲノム解析であるクロマチン免疫沈降—シーケンシング (ChIP-seq) のためには大量の細胞が必要であった。シングルセルで ChIP-seq を行っても、染色体は一对のため、ダイナミックレンジが 0、1、2 となり、この差を定量的かつ有意に計測できる手法が存在せず、意味のある結果を得ることは不可能であった。

## 2. 研究の目的

以上の結果を受けて、本研究では、イメージングと次世代シーケンシングを組み合わせ、幹細胞化という細胞運命転換の過程における GRN とエピゲノムの動態・相互作用を解明することを目的とした。具体的には、エピゲノムを構成する因子であるクロマチン修飾やヒストンバリエーションの幹細胞化過程におけるシングルセル 4D (3D+時間) イメージングとシングルセルトランスクリプトームを行い、ChIP-seq の結果と組み合わせることで、細胞の運命転換過程における GRN とエピゲノムの動態・相互作用をシングルセルレベルで解明しようと試みた。さらに、定量的な 4D イメージングのため、生体構造により乱れた光を補正する補償光学を顕微鏡に適用する研究など、生命科学と光学の異分野融合研究を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) クロマチン修飾・ヒストンバリエーション標識株の作出

エピゲノムを構成するクロマチン修飾とヒストンバリエーションについて、蛍光タンパク質を用いた標識株を作出した。クロマチン修飾の多くについては、すでに結合するタンパク質が同定されている。そのタンパク質と蛍光タンパク質との融合タンパク質をコードする遺伝子をヒメツリガネゴケに導入することでクロマチン修飾を標識した。ヒストンバリエーションについては、コードする遺伝子座に蛍光タンパク質遺伝子をノックインするか、ヒストンバリエーションと蛍光タンパク質との融合タンパク質をコードする遺伝子をヒメツリガネゴケに導入することで、ヒストンバリエーションを標識した。

### (2) 幹細胞化過程のシングルセル 4D イメージング

スピニングディスク共焦点ユニット (横河電機 CSU-21)、60x シリコン浸対物レンズ、植物培養照明ユニットを備えた顕微鏡 (オリンパス社 IX81) を用いて、傷害刺激後の幹細胞化過程における単一細胞核 4D イメージングを行った。

4D イメージングの際の長時間の励起光による光障害によって、幹細胞化が抑制されることを明らかにしていた。光障害を最低限にとどめつつ、できるだけ高い空間・時間分解能で 4D イメージングを行うために、像を取得する際の時間間隔、焦点間隔、励起時間やイメージングの際の媒質、蛍光イメージング以外の時間に植物体に供給する光の強度や波長などの条件検討を行った。

4D イメージングにより得られた像は ImageJ や Imaris (Zeiss) を用いて解析した。

細胞構造による光の乱れを補正することで定量的なイメージングを可能にする補償光学については、服部 雅之博士 (国立天文台)、研究分担者の三浦 則明博士 (北見工業大学) との共同研究のもと、140 素子の MEMS 型可変形鏡 Multi-DM (Boston Micromachines) を用いて光学定盤上に構築した。

(3) 植物細胞のシングルセルトランスクリプトーム解析（連携研究者 久保 稔博士を中心とした共同研究）

葉切断後、顕微操作によって細胞抽出液を吸引して、unique molecular identifier (UMI) 法 (Kivioja et al. 2011, Nat Methods) により RNA の逆転写産物を標識してシーケンシングを行なった。

(4) 次世代シーケンシングデータの解析

RNA-seq、ChIP-seq データの解析には主に R を用いた。

#### 4. 研究成果

(1) 細胞運命転換過程におけるクロマチン修飾の 4D イメージング

作出済みの H3K27me3 標識株に加えて、H3K4me3 や H3Ac 標識株を複数作出した結果、細胞核においてモザイク状の蛍光パターンを観察することに成功した。また、ヒストン H1 バリエーションなどのヒストンバリエーションについても蛍光タンパク質標識株を複数作出した。これらの株を細胞運命転換過程の 4D イメージングに供した。

また、4D イメージングの際の長時間の励起光による光障害によって幹細胞化が抑制される問題を解決するため、像を取得する際の励起時間や植物体に供給する光の方向などの条件を最適化し、幹細胞化が阻害されにくい観察条件を確立した。特に、蛍光イメージング以外の時間に植物体に供給する光について、幹細胞化する細胞が含まれる葉の切断面に向けて照射することが効果的に幹細胞化を誘導するために効果的であることがわかった。

H3K27me3 結合タンパク質標識株を用いて行った幹細胞化過程における単一細胞核 4D イメージングについて、ポリコムボディと考えられる細胞核内スペckル数を定量した結果、細胞核の分裂前ではスペckル数に大きな変動が観察されなかった一方、細胞核分裂後ではその数が倍近くに増加していることを明らかにした (図 1)。細胞核分裂は幹細胞化過程の最終盤に起き、またその時にはすでに *Stem cell inducing factor1 (STEMINI)* (Ishikawa et al. 2019, Nat Plants) や Cold shock domain protein1 (CSP1) (Li et al. 2017, Nat Commun) など既知の幹細胞化因子の発現は誘導されていた。以上の結果から、「GRN が変動した後でエピゲノムが変動して細胞の運命が固定される」という研究開始当初の仮説が裏付けられるとともに、「傷害刺激による GRN の変動により幹細胞化因子の発現が誘導され、それによって起きる細胞分裂を介してエピゲノムが大きく変動することで、幹細胞化が達成される」ことが示された。

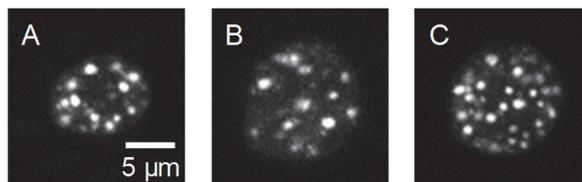


図 1 H3K27me3 蛍光標識株の幹細胞化過程における細胞核蛍光像 (A) 多能性幹細胞化中盤。(B) 幹細胞化因子発現後、細胞分裂直前。(C) 細胞分裂後。細胞分裂前までスペckル数はほとんど変化しないが、細胞分裂後に急に増加した。

(2) ヒストン修飾とヒストンバリエーションの関係の解明

これまでに H3K27me3 に対してヒストンバリエーション H3.3 が正に機能することを明らかにしていたが、一般に H3.3 は K27me3 を持たないとされていた。そこで、ヒストンの質量分析を行った結果、少なくともヒメツリガネゴケの配偶体においては H3.3 が K27me3 を持つことを解明した。

(3) 植物細胞のシングルセルトランスクリプトーム解析（連携研究者 久保 稔博士を中心とした共同研究）

細胞壁によって固定されている植物細胞は従来シングルセルトランスクリプトーム解析に供することができなかったが、顕微操作によって細胞抽出液を吸引 (図 2) して UMI 法によりシーケンシングを行うことで、安定してシングルセルトランスクリプトーム解析を行うことができるようになった。分化葉細胞と幹細胞化過程の細胞に対してシングルセルトランスクリプトーム解析を行った結果、幹細胞化過程におけるトランスクリプトーム変動の軌跡を見出すことに成功し、論文を発表した。また、孤立させた分化葉細胞がほぼ全て幹細胞化することを利用して、幹細胞化全過程におけるトランスクリプトームデータの取得にも成功した。これらの成果は、学会において発表した。

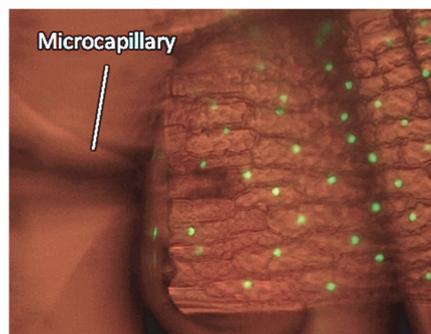


図 2 顕微操作による細胞液の抽出 細胞核を蛍光標識したヒメツリガネゴケ切断葉に対してマイクロキャピラリーを用いて細胞液を抽出した。マイクロキャピラリーを白線で示す。

#### (4) 大規模シングルセルエピゲノム解析のための細胞核調製法の確立

次世代シーケンサーを用いた大規模シングルセルエピゲノム解析を行うためには、インタクトな細胞核を多数回収する必要がある。しかし、細胞壁に固定された植物細胞を破碎する際に細胞核もダメージを受けてしまい、さらに細胞核とサイズが近い多数の葉緑体を完全に分離することが難しいという課題があった。そこで、植物細胞の破碎法や細胞核の精製に用いる試薬を検討・最適化した後、セルソーターにて分離した結果、インタクトな細胞核を多数調製することに成功した。

#### (5) 細胞運命転換に機能する新規因子の発見と機能解析（研究分担者 榊原 恵子博士を中心とした共同研究）

被子植物において幹細胞の維持に機能する転写因子 WUSCHEL のヒメツリガネゴケホモログ WUSCHEL-related homeobox 13-like A (PpWOX13LA)、PpWOX13LB が分化葉細胞から幹細胞への運命転換に機能することを明らかにしていたが (Sakakibara et al. 2014, Development)、もう一つのホモログ PpWOX13LC についても細胞の運命転換に機能しないか解析を進めた。PpWOX13LC 遺伝子の欠失株を作出した結果、孢子体形成率が大幅に減少した。さらに、PpWOX13LC タンパク質が造精器内部にて起きる精子への分化過程で発現することを解明した (図3)。以上の結果から、PpWOX13LC が精子分化という細胞運命転換に機能することが示唆された。

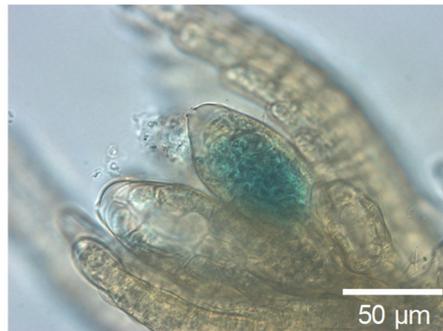


図3 PpWOX13LCタンパク質の局在 PpWOX13LC遺伝子座にuidA遺伝子をノックインした株を作出し、GUSの活性によってPpWOX13LC-GUS融合タンパク質の局在を解明した。

#### (6) 生きた植物細胞の新規定量イメージング法の確立（研究分担者 三浦 則明博士を中心とした共同研究）

生きた植物細胞の構造によって乱れた光を補正することで定量的なイメージングを可能にする補償光学を顕微鏡に適用する研究について、画像相関法の研究を進めた。画像相関法とは、シャックハルトマン波面センサーにおいて、それぞれのレンズレットアレイが結像する像同士の相関を計算して変位を求めることで、光の乱れを計測する手法である。この手法では、参照光源としての点光源がなくても光の乱れの補正量を計算できることから、例えば明視野像を用いて光の乱れを計算することも可能であり、生体への光障害がほとんどない補償光学を実現することができる。本研究では、隣接する画像の相関から従来よりも精度よく光の乱れを計測する手法を確立した。これを生きた植物細胞の観察に適用し、改善された蛍光像を得ることに成功した。

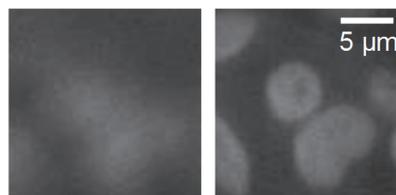


図4 画像相関法により動作させた補償光学による葉緑体自家蛍光像の補正 ヒメツリガネゴケ葉緑体自家蛍光のデフォーカス像 (左) と、画像相関法により動作させた補償光学による補正像 (右) を示す。

#### <引用文献>

- ① Xu Y, Zhang M, Li W, Zhu X, Bao X, Qin B, Hutchins AP, Esteban MA. (2016) Transcriptional control of somatic cell reprogramming. Trends Cell Biol. 26: 272-288.
- ② Nashun B, Hill PW, Hajkova P. (2015) Reprogramming of cell fate: epigenetic memory and the erasure of memories past. EMBO J. 34: 1296-308.
- ③ Kofuji R, Hasebe M. (2014) Eight types of stem cells in the life cycle of the moss *Physcomitrella patens*. Curr. Opin. Plant Biol. 17: 13-21.
- ④ Ishikawa M, Murata T, Sato Y, Nishiyama T, Hiwatashi Y, Imai A, Kimura M, Sugimoto N, Akita A, Oguri Y, Friedman WE, Hasebe M, Kubo M. (2011) *Physcomitrella* cyclin-dependent kinase A links cell cycle reactivation to other cellular changes during reprogramming of leaf cells. Plant Cell 23: 2924-38.
- ⑤ Li C, Sako Y, Imai A, Nishiyama T, Thompson K, Kubo M, Hiwatashi Y, Kabeya Y, Karlson D, Wu SH, Ishikawa M, Murata T, Benfey PN, Sato Y, Tamada Y, Hasebe M. (2017) A Lin28 homologue reprograms differentiated cells to stem cells in the moss *Physcomitrella patens*. Nat. Commun. 8:14242.
- ⑥ Kivioja T, Vähärautio A, Karlsson K, Bonke M, Enge M, Linnarsson S, Taipale J. (2011) Counting absolute numbers of molecules using unique molecular identifiers. Nat. Methods 9: 72-4.
- ⑦ Ishikawa M, Morishita M, Higuchi Y, Ichikawa S, Ishikawa T, Nishiyama T, Kabeya Y, Hiwatashi

Y, Kurata T, Kubo M, Shigenobu S, Tamada Y, Sato Y, Hasebe M. (2019) *Physcomitrella* STEMIN transcription factor induces stem cell formation with epigenetic reprogramming. *Nat. Plants* 5: 681-690.

- ⑧ Sakakibara K, Reisewitz P, Aoyama T, Friedrich T, Ando S, Sato Y, Tamada Y, Nishiyama T, Hiwatashi Y, Kurata T, Ishikawa M, Deguchi H, Rensing SA, Werr W, Murata T, Hasebe M, Laux T. (2014) *WOX13-like* genes are required for reprogramming of leaf and protoplast cells into stem cells in the moss *Physcomitrella patens*. *Development* 141: 1660-70.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kumar M, Quan X, Awatsuji Y, Tamada Y, Matoba O	4. 巻 10
2. 論文標題 Digital holographic multimodal cross-sectional fluorescence and quantitative phase imaging system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7580
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-64028-x	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 Kumar M, Quan X, Awatsuji Y, Cheng C, Hasebe M, Tamada Y, Matoba O	4. 巻 25
2. 論文標題 Common-path multimodal three-dimensional fluorescence and phase imaging system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Optics	6. 最初と最後の頁 32010
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1117/1.JBO.25.3.032010	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 Komuro K, Oe K, Tamada Y, Nomura T	4. 巻 26
2. 論文標題 Complex amplitude mapping based on adaptive autofocusing algorithm	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Optical Review	6. 最初と最後の頁 342-348
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10043-019-00507-5	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 的場 修、全 香玉、Manoj Kumar, Sudheesh K. Rajput、粟辻 安浩、玉田 洋介、森田 光洋	4. 巻 49
2. 論文標題 オプトジェネティクス応用のためのホログラフィック顕微鏡	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 光学	6. 最初と最後の頁 113-120
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 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 玉田 洋介、小倉 裕介、亀井 保博、服部 雅之	4. 巻 5
2. 論文標題 空間光変調器を用いた生細胞イメージング	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 フォトニクスニュース	6. 最初と最後の頁 188-192
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 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 Minoru Kubo, Tomoaki Nishiyama, Yosuke Tamada, Ryosuke Sano, Masaki Ishikawa, Takashi Murata, Akihiro Imai, Daniel Lang, Taku Demura, Ralf Reski, Mitsuyasu Hasebe	4. 巻 47
2. 論文標題 Single-cell transcriptome analysis of Physcomitrella leaf cells during reprogramming using microcapillary manipulation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic Acid Research	6. 最初と最後の頁 gkz181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkz181	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 Ryo Sugimoto, Ryoji Maruyama, Yosuke Tamada, Hidenobu Arimoto, Wataru Watanabe	4. 巻 183
2. 論文標題 Contrast enhancement by oblique illumination microscopy with an LED array	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Optik	6. 最初と最後の頁 92-98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijleo.2019.02.068	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 Yuma Ogasawara, Ryo Sugimoto, Ryoji Maruyama, Hidenobu Arimoto, Yosuke Tamada, Wataru Watanabe	4. 巻 24
2. 論文標題 Mobile-phone-based Rheinberg microscope with an LED array	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Optics	6. 最初と最後の頁 31007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1117/1.JBO.24.3.031007	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 玉田 洋介、服部 雅之	4. 巻 3
2. 論文標題 補償光学：生物の深部を生きのまま観察	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 166-171
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 Shizuka Koshimizu, Rumiko Kofuji, Yuko Sasaki-Sekimoto, Masahide Kikkawa, Mie Shimojima, Hiroyuki Ohta, Shuji Shigenobu, Yukiko Kabeya, Yuji Hiwatashi, Yosuke Tamada, Takashi Murata, Mitsuyasu Hasebe	4. 巻 4
2. 論文標題 Physcomitrella MADS-box genes regulate water supply and sperm movement for fertilization	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 36-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41477-017-0082-9	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 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Kikuchi H, Honma Y, Miura N, Shibuya T, Tamada Y, Matsuda A, Hattori M
2. 発表標題 Differential sensing technique for correlation-based adaptive optics
3. 学会等名 SPIE BiOS (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 玉田洋介
2. 発表標題 バイオイメージングが革新する生物学研究
3. 学会等名 板橋オプトフォーラム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 玉田洋介
2. 発表標題 イメージングが革新する生物学
3. 学会等名 第10回デジタルオプティクス研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yosuke Tamada
2. 発表標題 Imaging toward understanding the strong ability of stem-cell formation in plants
3. 学会等名 International Workshop on Bioimaging 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yosuke Tamada, Noriaki Miura, Masayuki Hattori
2. 発表標題 Optical modeling of living cells towards the live-cell imaging with higher-order adaptive optics
3. 学会等名 The 66th NIBB Conference / ABiS International Symposium “Cutting Edge Techniques of Bioimaging”（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Honma, Noriaki Miura, Hayao Kikuchi, Masayuki Hattori, Yosuke Tamada, Atsushi Matsuda
2. 発表標題 Development of microscopic adaptive optics using image correlation
3. 学会等名 SPIE BiOS（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takahiro Nishimura, Daiki Shinkawa, Yusuke Ogura, Yosuke Tamada, Jun Tanida
2. 発表標題 Lateral spatial resolution improvement in laser scanning fluorescence microscopy using a subdiffraction limit optical spot
3. 学会等名 The 4th Biomedical Imaging and Sensing Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 玉田 洋介
2. 発表標題 イメージングで解明する植物の高い幹細胞化・再生能力
3. 学会等名 神戸大学極みプロジェクト キックオフシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋山毅志、服部雅之、早野裕、玉田洋介、稲垣繁
2. 発表標題 微小高速波面変動計測手法の開発とプラズマ揺動計測への適用
3. 学会等名 日本光学会年次学術講演会Optics & Photonics Japan 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 玉田 洋介
2. 発表標題 生細胞における光の乱れのモデリングとその補正による深部イメージング
3. 学会等名 東京理科大学イメージングフロンティアセンター講演会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 玉田 洋介
2. 発表標題 細胞の運命を変えるクロマチン制御機構
3. 学会等名 甲南生物学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新井 亨、佐野 亮輔、玉田 洋介、西山 智明、佐藤 良勝、出村 拓、長谷部 光泰、久保 稔
2. 発表標題 1細胞遺伝子発現解析を用いたヒメツリガネゴケ葉細胞におけるリプログラミング分子機構の解明
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 玉田 洋介
2. 発表標題 生細胞の光学モデリングと補償光学による深部生細胞イメージング
3. 学会等名 第12回新画像システム・情報フォトンクス研究討論会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yosuke Tamada
2. 発表標題 Epigenome analysis during the cell-fate transition in the moss <i>Physcomitrella patens</i>
3. 学会等名 17th Biological Sciences Seminar at Tokyo Metropolitan University（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yosuke Tamada
2. 発表標題 Role of the histone variant in cell-fate transition
3. 学会等名 The plant epigenetics consortium in Japan - Second meeting (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yosuke Tamada, Chaoyang Cheng, Yukiko Kabeya, Mitsuyasu Hasebe
2. 発表標題 Histone H3.3 chaperone HIRA is involved in transcription repression by H3K27me3 and cell-fate transition in the moss <i>Physcomitrella patens</i>
3. 学会等名 NCU Global Young Investigator Forum 2018 on "Regulatory Mechanisms of Epigenetic Information and Their Clinical Applications" (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yosuke Tamada, Chaoyang Cheng, Yukiko Kabeya, Mitsuyasu Hasebe
2. 発表標題 Histone variant H3.3 deposited by HIRA is required for H3K27me3 accumulation in gametophytes of the moss <i>Physcomitrella patens</i>
3. 学会等名 The 65th NIBB Conference "Renaissance of Marchantia polymorpha the genome and beyond" (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 玉田 洋介
2. 発表標題 多能性幹細胞化を制御するエピジェネティクス機構
3. 学会等名 平成29年度遺伝研研究会「エピジェネティクスの基盤となるクロマチン・細胞核の動的構造変換」(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 玉田 洋介
2. 発表標題 トランスクリプトーム・エピゲノム制御による細胞の運命転換
3. 学会等名 第8回高次クロマチン研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 2,玉田 洋介、Chen Li、佐古 祐介、今井 章裕、佐藤 良勝、長谷部 光泰
2. 発表標題 動植物に保存された幹細胞化促進因子の機能解析
3. 学会等名 日本植物学会第81回大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>宇都宮大学 地域創生科学研究科 光工学プログラム  <a href="https://www.utsunomiya-u.ac.jp/grdc/agricultural/light_engineering.html">https://www.utsunomiya-u.ac.jp/grdc/agricultural/light_engineering.html</a>          宇都宮大学 工学部 物質環境化学コース  <a href="http://www.eng.utsunomiya-u.ac.jp/course/material-and-environmental-chemistry-course/">http://www.eng.utsunomiya-u.ac.jp/course/material-and-environmental-chemistry-course/</a>          日本光学会 研究グループ  <a href="http://myosj.or.jp/group/">http://myosj.or.jp/group/</a>          植物科学の最前線（BSJ-Review）「生命科学の次なるパラダイムシフトに向かって」  <a href="https://bsj.or.jp/jpn/general/bsj-review-10th/BSJ-review_10th_Tamada.pdf">https://bsj.or.jp/jpn/general/bsj-review-10th/BSJ-review_10th_Tamada.pdf</a>          レーザー学会学術講演会第39回年次大会 プログラム委員  <a href="https://lsj-nenkai.net/committee/program_executive/">https://lsj-nenkai.net/committee/program_executive/</a>          SPIE Biomedical Imaging and Sensing Conference Program Committee member  <a href="https://opicon.jp/wp-content/themes/opic2020/download/bisc/callforpaper.pdf">https://opicon.jp/wp-content/themes/opic2020/download/bisc/callforpaper.pdf</a>          アウトリーチ活動など          1, 研究会オーガナイザー、「乱れ」にはじまるイメージング、2019年1月23日、宇都宮大学陽東キャンパス  <a href="https://sites.google.com/site/photodysinglepx/">(https://sites.google.com/site/photodysinglepx/)</a>          2, コニカミノルタ光みらい奨励金 審査委員、2018          3, 高校生研究ポスター発表 選任審査員：玉田 洋介ら、日本植物学会第81回大会、野田、2017年9月10日</p>
--

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
研究 分 担 者	三浦 則明	北見工業大学・工学部・教授	
	(Miura Noriaki)  (30209720)	  (10106)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	榊原 恵子  (Sakakibara Keiko)  (90590000)	立教大学・理学部・准教授    (32686)	
研究 協力者	壁谷 幸子  (Kabeya Yukiko)	基礎生物学研究所・生物進化研究部門・技術職員    (63904)	
連携 研究者	久保 稔  (Kubo Minoru)  (30342778)	熊本大学・大学院先端科学研究部・特任講師    (17401)	
連携 研究者	長谷部 光泰  (Hasebe Mitsuyasu)  (40237996)	基礎生物学研究所・生物進化研究部門・教授    (63904)	