

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07313

研究課題名(和文) 修飾ヌクレオソームの質量分析による構造生物学

研究課題名(英文) Structural analysis of modified NCP using mass spectrometry

研究代表者

明石 知子 (AKASHI, Satoko)

横浜市立大学・生命医科学研究科・教授

研究者番号：10280728

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：DNAのメチル化やヒストンのアセチル化等の修飾により引き起こされるヒストンテイルを含めたヌクレオソームの構造変化、そしてDNA配列に起因するヌクレオソームの安定性の違いを明らかにするため、質量分析やX線小角散乱などを用いて構造研究を行った。修飾ヌクレオソームの解析では、異なる長さのDNAを用いてモノ～ジヌクレオソームを調製し、生体における”beads-on-a-string”に近づけた解析も行った。また結晶構造解析が行われていない特殊な配列を有するDNAで作成したNCPの物理化学的な特性解析を行った。約400塩基対程度のDNAであればメチル化反応の進行程度を確実に決定する方法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

極めて多くのサイトがメチル化されたDNAを用いて再構成されたDNAの構造解析のための要素技術を質量分析を駆使して開発できたことは、エピゲノム科学研究の基盤構築に貢献できると考えられる。特に、今後クライオ電顕による構造解析を組み合わせることで、このような研究が大幅に進展すると考えられるが、そのための準備段階として、有用な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：To clarify structural changes in nucleosomes caused by modifications, such as DNA methylation and histone acetylation, we performed biophysical analysis of modified nucleosome core particles (NCPs) that were reconstituted in vitro. In the analysis of modified NCPs, mono- and di-NCP were prepared with 147 and 366 base-pair (bp) DNA oligomers. Further, we prepared NCPs with DNA oligomers having AT or CG rich sequences, and characterized their biophysical properties by mass spectrometry and small angle X-ray scattering. No structural information is available for these NCPs due to difficulty in crystallization. We established a mass spectrometric method to reliably determine the methylation levels of DNA fragments with ~400 bp.

研究分野：構造生物化学

キーワード：質量分析 ヌクレオソームコア粒子 構造解析

## 1. 研究開始当初の背景

真核生物の遺伝情報を収納する最小ユニットであるモノヌクレオソーム (ヌクレオソームコア粒子、NCP, ~200 kDa) の構造は、複数種が X 線結晶構造解析で既に決定されている。特に 2015 年以降、DNA の CpG メチル化やヒストンのアセチル化、メチル化、ユビキチン化された NCP の結晶構造が相次いで報告され、コア部分の原子レベルの詳細な構造情報が得られている。

しかし、転写開始の制御は、ヒストンテイル領域の様々な翻訳後修飾や DNA の CpG メチル化と、これら修飾部位を認識するクロマチン再構成因子等のタンパク質群との相互作用により引き起こされるクロマチンの凝縮や脱凝縮、さらに、ある特定のヒストンバリエーションの NCP への選択的な取り込み等に基づくと考えられている。すなわち、これらの修飾は転写制御のトリガー因子の様な重要な位置づけにあり、各修飾により直接引き起こされる NCP の構造変化は転写開始のメカニズムを考える上で重要な情報であると考えられる。しかし、機能に重要なヒストンテイルを含めた構造情報を X 線結晶構造解析で得ることは困難なため、テイルの構造にも着目した報告はこれまでになされていない。

質量分析では、修飾に伴う質量変化から修飾の程度や部位を決定することができる。また、ネイティブな条件での質量分析 (ネイティブ MS) では、NCP のように 200 kDa を超える巨大複合体でも、丸ごとの質量を求めることができる。私たちは、NCP の再構成の過程では、カノニカルなオクタソーム NCP に加えヘキサソーム NCP も得られることを、質量分析で見出している (Biochemistry 2013)。

一方、質量の情報だけではコンフォメーション変化の追跡は容易ではないが、近年開発されたイオンモビリティ質量分析 (IM-MS) は同じ質量をもつイオンでも“形”で分離することができ、イオンの質量に加え衝突断面積 (CCS (Å<sup>2</sup>)) を決定できる。これまでに応募者らは、NCP の構成要素で構造未決定だったヒストン多量体 (H2A/H2B 二量体 (28 kDa) および (H3/H4)<sub>2</sub> 四量体 (56 kDa)) を IM-MS と 分子動力学 (MD) シミュレーションで解析し、テイル領域を含めた全体構造をこの手法で議論できることを明らかにしている (Anal. Chem. 2013)。

また、タンパク質主鎖のアミド水素の重水素交換速度を解析する水素重水素交換質量分析 (HDX-MS) を用いることで、テイル欠損 H2A/H2B 二量体は野生型に比べて溶液における構造が緩むこと (Anal. Chem. 2015) や、ヒストンテイル部に存在する Arg の脱イミノ化により、H2A/H2B 二量体は、気相でより安定な二量体となるが、アセチル化ではそのような安定化は見られないこと (J. Mass Spectrom. 2010, Protein Sci. 2015) 等を見出している。すなわち、機能する“形”や状態に関する情報を得るためのネイティブ MS や HDX-MS、IM-MS など、ヒストン多量体の構造解析を、質量分析法を駆使して行ってきた。

このような研究を、DNA とヒストンタンパク質の複合体であるヌクレオソームの系に発展させることで、修飾によりヌクレオソームにもたらされる構造特性の変化について、ヒストンテイルを含めて解析でき、転写制御の構造基盤を得られると考えた。本研究では、結晶化しなくても解析できる、またヘテロな状態でも解析できる質量分析を駆使して修飾されたヌクレオソームの構造を解析することで、転写制御のクロマチンの構造基盤を得ることを目指す。そして、転写制御メカニズムの総合的な理解につなげる。

## 2. 研究の目的

本研究では、DNA のメチル化やヒストンのアセチル化等の修飾により引き起こされるヒストンテイルを含めたヌクレオソームの構造変化、そして DNA 配列に起因するヌクレオソームの安定性の違いを明らかにするため、質量分析や X 線溶液散乱 (SAXS) を用いた構造研究を展開する。修飾ヌクレオソームの解析では、異なる長さの DNA を用いてモノ~ジヌクレオソームを調製し、NCP のみならず生体における“beads-on-a-string”により近づけて解析を行う。

これまで構造が解かれている NCP は、ヒストンに硬く巻き付き NCP の構造を安定化する主に 2 種類の DNA 配列を有するものから構成されている。これは、いずれの場合も結晶構造解析しやすいためと考えられる。そこで、AT や CG リッチな特殊な配列を有する NCP の再構成や物理化学的な特性解析を行うことで、結晶構造解析が困難な NCP の構造に関して情報を得ることを目指す。

## 3. 研究の方法

大腸菌発現系を用いて 4 種類のヒストンタンパク質 (H2A, H2B, H3, H4) を調製した。DNA メチル化酵素 M.SssI も大腸菌発現系で調製した。モノヌクレオソーム用の 147 塩基対、ジヌクレオソーム用の 366 塩基対の DNA も大腸菌を用いて調製した。これらに対して、特異的な酵素を用いて DNA の CpG メチル化、ヒストンのアセチル化を施し、修飾 NCP を調製した。修飾の有無で、構造や安定性、運動性等物理化学的特性がどのように異なるのか、解析するとともに、低分解能の溶液構造を取得し解析した。さらに、2 つの NCP がリンカー DNA で繋がれた di-NCP を調製し、アセチル化および CpG メチル化の有無での構造の違いについて、NCP 同様に解析し

た。なお、DNA の CpG メチル化は M.SssI (大腸菌発現系でリコンビナントタンパク質として調製) で、ヒストンのアセチル化はヒストンアセチル機転移酵素 (HAT) の一つである p300 (市販品、Enzo Life Science 社製) を用いて行った。

特殊な配列を有する DNA は、5'側に約 70 塩基対の Widom601 配列 (すでに結晶構造が解かっている NCP を構成する DNA 配列で、人工的にデザインされ作られた DNA) を、3'側に (CCG)<sub>n</sub> または (ATT)<sub>n</sub> 配列を含んだ DNA 配列を結合させたもののキメラとして調製した。キメラとして調製したのは、全て (CCG)<sub>n</sub> または (ATT)<sub>n</sub> 配列とすることで NCP の再構成ができなくなることを避けるためである。これらキメラ DNA とヒストンタンパク質を用いて NCP を再構成し、物理化学的な特性解析を行った。

解析に用いた実験手法は以下の通りである: ネイティブ MS による質量分析、IM-MS による衝突断面積に基づく解析、X 線小角散乱 (SAXS) による溶液構造の解析、水素重水素交換質量分析 (HDX-MS)、サーマルシフトアッセイによる熱安定性の解析

#### 4. 研究成果

##### (1) DNA メチル化部位の確実な確認手法の構築

DNA メチル化酵素 M.SssI を用いて、147 および 366 塩基対の DNA をメチル化した。これら 147 および 366 塩基対の DNA 鎖には、それぞれ 30 および 56 か所もの CpG 配列を有する。修飾される可能性のあるすべての CpG 部位のメチル化の有無を、質量変化で確実に確認するため、メチル化の有無で切断に差が出ないように制限酵素で切断し、変性条件下で質量分析した。147 塩基対の DNA では MseI を用いて消化後、366 塩基対の DNA では ScaI と MseI の二重消化を行った。続いて 50%メタノールを含む 10 mM 酢酸アンモニウム水溶液に溶媒交換した後、負イオン検出モードでのエレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) でマススペクトルの測定を行った。その結果、表 1 および表 2 に示すように、末端近傍の CpG 配列を有する DNA フラグメントでは、一部メチル化を受けなかったが、それ以外はすべてメチル化されていることが分かった。末端近傍でメチル化率が低下したことは、メチル化酵素の足場が提供されずメチル化が進みにくいためと考えられる。

この方法は、LC での分離なしにすべてのメチル化部位を確実に決定できる画期的な方法であり、学会発表の後論文として報告した。

表 1. メチル化あり、なしの 147 bp DNA を MseI で消化して得られた断片の質量分析の結果

位置	配列	CpG の数	質量理論値 (未修飾)	質量理論値 (修飾有)	観測質量	質量差
1F_147 [1-57]	5'-ATCGAGAATC CCGGTGC <b>CGA</b> GGC <b>CG</b> CTCAA TTGGT <b>CG</b> TAG ACAGCTCTAG CAC <b>CG</b> CT-3'	6	17595.4	17679.6	17665.1±1.2 (5Me)	-14.5
2F_147 [58-88]	5'-TAAAC <b>GCACG</b> TA <b>CG</b> CGCTGT CCCC <b>CG</b> CGTT T-3'	6	9488.1	9572.3	9571.6±0.8 (6Me)	-0.7
3F_147 [89- 147]	5'-TAAC <b>CG</b> CCAA GGGGATTACT CCCTAGTCTC CAGGCAC <b>GTG</b> TCAGATATAT ACATC <b>CG</b> AT-3'	3	18168.8	18210.9	18197.7±0.9 (2Me)	-13.2
1R_147 [89- 147]	5'-TAAG <b>CG</b> GTGC TAGAGCTGTC TA <b>CG</b> ACCAAT TGAG <b>CG</b> GCCT CGGCAC <b>CGG</b> ATTCT <b>CG</b> AT-3'	6	18283.8	18368.0	18353.4±0.4 (5Me)	-14.6
2R_147 [58-88]	5'-TAAAA <b>CG</b> CGG GGGACAG <b>CGC</b> GTAC <b>GTG</b> CGT T-3'	6	9706.3	9790.5	9789.1±0.5 (6Me)	-1.4
3R_147 [1-57]	5'-AT <b>CG</b> GATGTA TATATCTGAC	3	17733.5	17775.6	<b>17761.6±1.2</b> (2Me)	-14.0 -0.8

	ACGTG <b>C</b> CTGG AGACTAGGGA GTAATCCCCT TGG <b>C</b> GGT-3'				17774.8±0.9 (3Me)	
--	--	--	--	--	----------------------	--

表 2. メチル化あり、なしの 366 bp DNA を *MseI* と *ScaI* で消化して得られた断片の質量分析の結果

位置	配列	CpG の数	質量理論値 (未修飾)	質量理論値 (修飾有)	観測質量	質量差
1F_366 [1-15]	5'-ATCATCCAAG ACAGT-3'	0	4625.0	4625.0	4624.0±0.3 (0Me)	-1.0
2F_366 [16-82]	5'-ACTGG <b>C</b> CGCC CTGGAGAATC C <b>CG</b> GTG <b>C</b> CGA	6	20662.3	20746.5	20746.0±0.6 (6Me)	-0.5
5F_366 [183-249]	GG <b>C</b> CGCTCAA TTGGT <b>C</b> GTAG ACAGCTCTAG CAC <b>C</b> GCT-3'					
3F_366 [83-113]	5'-TAAA <b>C</b> GC <b>C</b> CG T <b>AC</b> GC <b>C</b> GCTGT	6	9488.1	9572.3	9572.4±1.2 (6Me)	+1.1
6F_366 [250-280]	CCCC <b>C</b> GC <b>G</b> T T-3'					
4F_366 [114-182]	5'-TAAC <b>C</b> GCCAA GGGGATTACT CCCTAGTCTC CAGGC <b>C</b> GTG	2	21274.8	21302.9	21304.1±2.8 (2Me)	+1.2
7F_366 [281-349]	TCAGATATAT ACATCCTGTG CATGTAAGT-3'					
8F_366 [350-366]	5'-ACTCTGTCTT GGATGAT-3'	0	5271.4	5271.4	5270.7±0.4 (0Me)	-0.7
1R_366 [352-366]	5'-ACTGTCTTGG ATGAT-3'	0	4678.0	4678.0	4677.8±0.1 (0Me)	-0.2
2R_366 [283-351]	5'-TAAG <b>C</b> GGTGC TAGAGCTGTC T <b>AC</b> GACCAAT TGAG <b>C</b> GGCCT	6	21399.8	21484.0	21484.5±0.1 (6Me)	+0.5
5R_366 [116-184]	<b>C</b> GGCAC <b>C</b> GGG ATTCTCCAGG G <b>C</b> GGCCAGT-3'					
3R_366 [252-282]	5'-TAAA <b>C</b> GC <b>C</b> GG GGGACAG <b>C</b> GC	6	9706.2	9790.4	9789.8±0.3 (6Me)	-0.6
6R_366 [85-115]	GT <b>AC</b> GTG <b>C</b> GT T-3'					

(2) DNA メチル化の有無での NCP および di-NCP の特性比較

上述の方法で、30 および 56 か所の CpG 配列すべてがメチル化されていることを質量分析で確認した DNA と 4 種類のヒストンタンパク質を用いて NCP および di-NCP を再構成した。メチル化していない DNA を用いて作成した NCP および di-NCP を対照として、DNA のメチ

ル化の有無で、どのような物理化学的性質や構造の違いがあるのかを、SAXS、サーマルシフトアッセイ、Native PAGE 等で解析した。その結果、顕著な差は見られなかった。これらの結果について学会発表した。

(3) ヒストンアセチル化の有無での NCP および di-NCP

NCP および di-NCP を再構成した後、p300 を用いてヒストンのアセチル化を行った。導入されたアセチル基の数を、マトリックスレーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS) で確認したところ、NCP では H3 で 0~4 か所、H2A、H2B、H4 で 0~1 か所アセチル化されていた。di-NCP では H3 で 3~5 か所、H2AH、H2B で 1~4 か所、H4 では 0 か所アセチル化されていた。なお、導入されたアセチル基の数は、用いる HAT のロットに大きく依存し、アセチル化が H3 に入りやすく H4 に入りにくい傾向ということは再現性が見られたが、アセチル基の数にはばらつきが多いことが分かった。

アセチル化の有無で NCP および di-NCP の物理化学的および構造的特性の違いを解析した。NCP では、アセチル化の有無で、測定溶媒に用いる酢酸アンモニウム濃度に依存して、ESI-MS で観測されるピークに差があることが分かった。すなわち、アセチル化された NCP では 1 M 酢酸アンモニウム水溶液中では、NCP のイオンに加え、はがれた DNA のイオンが観測されるのに対し、アセチル化されていない NCP では NCP のイオンのみ観測された。

アセチル化の有無での di-NCP の構造の違いを SAXS で観察したところ、アセチル化された di-NCP の慣性半径が若干小さい数値となった。ただしその差は小さいので再現性の確認が必要である。di-NCP 中の 4 種類のヒストンの重水素交換で置換されるアミド水素の数を比較を試みたが、はっきりとした差は確認できなかった。

これらの結果について学会発表した。

(4) 特殊な配列を有する NCP の再構成と特性解析

(CCG)<sub>15</sub> や(ATT)<sub>17</sub> の繰り返し配列と Widom601DNA の半分の長さの DNA 配列を含む 147 塩基対の二重鎖 DNA を設計し調製を検討した。これら繰り返し配列を持たない Widom601DNA を用いた NCP も再構成し、ネイティブ MS、IM-MS、SAXS およびサーマルシフトアッセイで NCP 安定性の配列依存性について解析した。その結果、SAXS では顕著な差は確認されなかったが、塩濃度が低い時には、(ATT)<sub>17</sub> の繰り返し配列を含む NCP は、他の 2 つの NCP に比べ熱安定性が下がることが分かった。

これらの結果について学会発表した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12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 Mylemans Bram, Laier Ina, Kamata Kenichi, Akashi Satoko, Noguchi Hiroki, Tame Jeremy R. H., Voet Arnout R. D.	4. 巻 288
2. 論文標題 Structural plasticity of a designer protein sheds light on propeller protein evolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 530 ~ 545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.15347	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 Kazumi Saikusa, Haruna Hidaka, Shunsuke Izumi, Satoko Akashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Mass Spectrometric Characterization of Histone H3 Isolated from in-Vitro Reconstituted and Acetylated Nucleosome Core Particle.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mass Spectrom (Tokyo)	6. 最初と最後の頁 A0090
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5702/massspectrometry. A0090	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 Takano Kotaro, Arai Shunsuke, Sakamoto Seiji, Ushijima Hiroshi, Ikegami Takahisa, Saikusa Kazumi, Konuma Tsuyoshi, Hamachi Itaru, Akashi Satoko	4. 巻 412
2. 論文標題 Screening of protein-ligand interactions under crude conditions by native mass spectrometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical and Bioanalytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 4037 ~ 4043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00216-020-02649-x	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 Mayanagi Kouta, Saikusa Kazumi, Miyazaki Naoyuki, Akashi Satoko, Iwasaki Kenji, Nishimura Yoshifumi, Morikawa Kosuke, Tsunaka Yasuo	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural visualization of key steps in nucleosome reorganization by human FACT	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-46617-7	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 Ushijima Hiroshi, Maekawa Rena, Igarashi Eri, Akashi Satoko	4. 巻 30
2. 論文標題 Rapid and Definitive Analysis of In Vitro DNA Methylation by Nano-electrospray Ionization Mass Spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of The American Society for Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 2335 ~ 2346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13361-019-02304-5	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 Saikusa Kazumi, Kato Daiki, Nagadoi Aritaka, Kurumizaka Hitoshi, Akashi Satoko	4. 巻 31
2. 論文標題 Native Mass Spectrometry of Protein and DNA Complexes Prepared in Nonvolatile Buffers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society for Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 711 ~ 718
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jasms.9b00145	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 Tamura Risako, Oi Rika, Akashi Satoko, Kaneko Mika K., Kato Yukinari, Nogi Terukazu	4. 巻 28
2. 論文標題 Application of the NZ 1 Fab as a crystallization chaperone for PA tag inserted target proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Protein Science	6. 最初と最後の頁 823 ~ 836
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.3580	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 Hyodo Fuminori, Sho Takeya, Maity Basudev, Fujita Kenta, Tachibana Yoko, Akashi Satoko, Mano Megumi, Hishikawa Yuki, Matsuo Masayuki, Ueno Takafumi	4. 巻 24
2. 論文標題 Photoinduced in Vivo Magnetic Resonance Imaging (MRI) with Rapid CO Release from an MnCO-Protein Needle Composite	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemistry - A European Journal	6. 最初と最後の頁 11578 ~ 11583
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.201802445	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 Saikusa Kazumi, Osakabe Akihisa, Kato Daiki, Fuchigami Sotaro, Nagadoi Aritaka, Nishimura Yoshifumi, Kurumizaka Hitoshi, Akashi Satoko	4. 巻 90
2. 論文標題 Structural Diversity of Nucleosomes Characterized by Native Mass Spectrometry	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 8217 ~ 8226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b01649	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 Suzuki Rika, Sakakura Masayoshi, Mori Masaki, Fujii Moe, Akashi Satoko, Takahashi Hideo	4. 巻 71
2. 論文標題 Methyl-selective isotope labeling using $\alpha$ -ketoisovalerate for the yeast <i>Pichia pastoris</i> recombinant protein expression system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biomolecular NMR	6. 最初と最後の頁 213 ~ 223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10858-018-0192-3	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 Meyer Karen, Addy Christine, Akashi Satoko, Roper David I., Tame Jeremy R.H.	4. 巻 499
2. 論文標題 The crystal structure and oligomeric form of <i>Escherichia coli</i> $\alpha$ , $\beta$ -carboxypeptidase A	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 594 ~ 599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.03.195	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 Kato, D., Osakabe, A., Arimura, Y., Mizukami, Y., Horikoshi, N., Saikusa, K., Akashi, S., Nishimura, Y., Park, S.-Y., Nogami, J., Maehara, K., Ohkawa, Y., Matsumoto, A., Kono, H., Inoue, R., Sugiyama, M., Kurumizaka, H.	4. 巻 356
2. 論文標題 Crystal structure of the overlapping dinucleosome composed of hexasome and octasome.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 205 ~ 208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aak9867	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34件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 荒井駿佑, 坂本和香, 高野航太郎, 小沼剛, 明石知子
2. 発表標題 生細胞からサンプリングした試料のネイティブ質量分析
3. 学会等名 第68回質量分析総合討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 七種和美, 明石知子, 淵上壮太郎
2. 発表標題 イオンモビリティ質量分析と分子シミュレーションのデータ同化によるH2A-H2B二量体の構造解析
3. 学会等名 第68回質量分析総合討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田尻道子, 畔上奈々子, 古川良明, 明石知子
2. 発表標題 ネイティブ質量分析によるSOD1の金属結合の定量解析
3. 学会等名 第68回質量分析総合討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Ushijima, Takashi Oda, Takashi Umehara, Tsuyoshi Konuma, Satoko Akashi
2. 発表標題 Reconstitution and structural characterization of di-nucleosome with fully methylated DNA
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tsuyoshi Konuma, Kohei Hashimoto, Kanako Sato, Satoko Akashi
2. 発表標題 Structural Stability and Dynamics of NCPs Reconstituted with Diverse DNA Sequences
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 牛島弘嗣、小田隆、梅原崇史、小沼剛、明石知子
2. 発表標題 高メチル化DNAを用いたdi-nucleosomeの再構成と構造解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 明石知子、田尻道子、古川良明
2. 発表標題 ネイティブ質量分析による生命金属科学への挑戦
3. 学会等名 第93回日本生化学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 Native mass spectrometry for Bio-Metal Science
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小沼剛、坂本和香、高野航太郎、荒井駿佑、畔上奈々子、坂田優佑、明石知子
2. 発表標題 夾雑環境下で蛋白質複合体を検出するネイティブ質量分析システムの開発
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 生体内の現象の観測を目指したネイティブ質量分析
3. 学会等名 第74回イオン反応研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高野航太郎、七種和美、小沼剛、明石知子
2. 発表標題 生理的環境に近い状態で調製されたタンパク質およびDNAのネイティブ質量分析
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牛島弘嗣、前川怜奈、五十嵐愛莉、明石知子
2. 発表標題 ESI-TOF-MSを用いた簡便で正確なDNAメチル化追跡法
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 七種和美, 日高はる菜, 新屋大貴, 畔上奈々子, 加藤大貴, 胡桃坂仁志, 泉俊輔, 明石知子
2. 発表標題 質量分析を用いたアセチル化に伴うヌクレオソームの構造変化の解析
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Ushijima, Rena Maekawa, Eri Igarashi, Satoko Akashi
2. 発表標題 Accurate Mass Determination of Long DNA Fragments Prepared for Structural Biology Study of Epigenetic DNA methylation
3. 学会等名 The 67th ASMS Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 夾雑環境下でのネイティブ質量分析法の構築
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回細胞生物学会大会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津中康夫、真柳浩太、七種和美、宮崎直幸、明石知子、岩崎憲治、西村善文、森川耿右
2. 発表標題 電子顕微鏡構造からFACTを介したクロマチンリモデリングの分子機構にせまる
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回細胞生物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牛島弘嗣, 前川怜奈, 五十嵐愛莉, 橋本洸平, 小沼剛, 大橋和音, 明石知子
2. 発表標題 メチル化DNAを用いたdiNCPの再構成と構造特性解析
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 Native mass spectrometry of biomolecular complexes
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津中 康央, 真柳 浩太, 七種 和美, 宮崎 直幸, 明石 知子, 岩崎 憲治, 西村 善文, 森川 耿右
2. 発表標題 FACTによって引き起こされるヘキサゾーム構造の電子顕微鏡解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小沼 剛, 高野 航太郎, 荒井 駿佑, 坂田 優佑, 明石 知子
2. 発表標題 生細胞抽出物に対するネイティブ質量分析法の開発
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Risako Tamura, Rika Oi, Satoko Akashi, Mika K. Kaneko, Yukinari Kato, Terukazu Nogi
2. 発表標題 Insertion of the PA tag into a target protein and promotion of the crystallization by utilizing the NZ-1 Fab as a crystallization chaperone
3. 学会等名 16th Conference of the Asian Crystallographic Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kotaro Takano, Shunsuke Arai, Hiroshi Ushijima, Tsuyoshi Konuma, Kazumi Saikusa, Satoko Akashi
2. 発表標題 Native mass spectrometry of protein-ligand complexes under crude conditions
3. 学会等名 The 10th Asian Oceanic Mass Spectrometry Conference (10th AOMSC) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本洗平、長土居有隆、小沼剛、明石知子
2. 発表標題 (CCG) <sub>n</sub> 配列を含む二重鎖DNAからなるヌクレオソームコア粒子の再構成の試み
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 不揮発性緩衝液で調製した巨大タンパク質複合体の観測の試み
3. 学会等名 第10回LC/MSワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 日高はる菜、泉俊輔、明石知子、七種和美
2. 発表標題 質量分析によるヌクレオソームにおけるヒストンアセチル化の解析
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazumi Saikusa, Akihisa Osakabe, Daiki Kato, Sotaro Fuchigami, Aritaka Nagadoi, Yoshifumi Nishimura, Hitoshi Kurumizaka, Satoko Akashi
2. 発表標題 Structural Diversity of nucleosomes characterized by nanoESI-MS and structural calculation
3. 学会等名 22nd International Mass Spectrometry Conference
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 七種和美、淵上壮太郎、明石知子
2. 発表標題 イオンモビリティ質量分析で得られたヌクレオソームの構造多様性
3. 学会等名 第66回質量分析総合討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 七種和美、淵上壮太郎、明石知子
2. 発表標題 巨大タンパク質-DNA複合体NCPのイオンモビリティ質量分析と構造計算
3. 学会等名 第7回イオン移動度研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 七種和美、加藤大貴、長土居有隆、胡桃坂仁志、明石知子
2. 発表標題 不揮発性緩衝液で調製したタンパク質複合体のNative質量分析
3. 学会等名 第65回質量分析総合討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 前川怜奈、大橋和音、長土居有隆、明石知子
2. 発表標題 ヌクレオソームコア粒子のESI-MSにおける電荷分布の解析
3. 学会等名 第65回質量分析総合討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 再構成したヌクレオソームのネイティブ質量分析
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Wataru Kobayashi, Maya Aihara, Daiki Kato, Masako Koyama, Kazumi Saikusa, Satoko Akashi, Rintaro Inoue, Masaaki Sugiyama, Hitoshi Kurumizaka
2. 発表標題 Structural and biochemical analysis of overlapping dinucleosome containing histone variants and histone modifications
3. 学会等名 EMBO Conference “The Nucleosome: From Atoms to Genomes”（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 ネイティブな状態を捕える質量分析の構造生物学での展開
3. 学会等名 2017年度生命科学系合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 明石知子
2. 発表標題 ネイティブ質量分析 -ヌクレオソームから生命現象をつかさどる金属の解析まで-
3. 学会等名 日本化学会第98春季年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 明石知子、田尻道子	4. 発行年 2021年
2. 出版社 (株)エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 10
3. 書名 生命金属ダイナミクス: 生体内における金属の挙動と制御	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>横浜市立大学生命医科学研究科構造エピゲノム科学研究室  <a href="http://www-mls.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/lab/stbiol.html">http://www-mls.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/lab/stbiol.html</a></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
連携研究者	末松(七種) 和美  (Saikusa Kazumi)  (60608769)	産業技術総合研究所・計量標準総合センター・主任研究員    (82626)	

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