

領域略称名：非コード DNA
領域番号：3305

平成25年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「ゲノムを支える非コード DNA 領域の機能」

(領域設定期間)

平成23年度～平成27年度

平成25年 6月

領域代表者

国立遺伝学研究所・細胞遺伝研究系・教授・小林 武彦

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	3-4
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	5-7
3. 研究の進展状況	8-11
4. 若手研究者の育成に関する取組状況	12
5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	13
6. 総括班評価者による評価	14-15
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	16-19
8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）	20-25
9. 今後の研究領域の推進方策	26-27
10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画	28

1. 研究領域の目的及び概要（2ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

【概要】

真核細胞ゲノムの大半はタンパク質をコードしていない非コード DNA 領域である。この領域は染色体を制御、維持する作用を担っているが、同時に「ゲノムの秘境」であり、未だ詳細な解析がなされていない。本領域研究では異なる分野の研究者の連携研究により非コード DNA 領域に隠された未知なる機能を解明する。

【学術的背景、目的】

<非コード DNA 領域が支える染色体機能>

染色体は遺伝子を運ぶ乗り物であり、その機能は特徴的な DNA 配列により支えられている。例えば顕著な構造体を形成する配列としては、染色体分配に働くセントロメアや末端の保護構造であるテロメアがある。さらに染色体の“本体部”には、遺伝子の発現、DNA の複製開始、遺伝子増幅や改変を引き起こす組換えのホットスポット、DNA の脆弱部位、染色体凝縮などの染色体上で起こるイベント（染色体諸機能）を制御する配列がある。これら機能性配列はヒトゲノムの 98%を占める遺伝子間やイントロンと言った非コード DNA 領域に主として存在する。

高等真核細胞の非コード DNA 領域の特徴は、レトロトランスポゾン、リボソーム RNA 反復遺伝子（rDNA）、マイクロサテライト等を含んだ反復配列がその大半を占めることである。これらは上に述べたような染色体諸機能を制御する役割を担っていると考えられるが、従来の DNA 配列決定法では解析が困難なこともあり、研究が進んでいない。そこで本研究領域では、研究者間の強力な連携体制を築き、次世代シーケンサー等の新技術を駆使して、時代に先駆けて“秘境”非コード DNA 領域による染色体制御機構の全貌解明に挑む。

<クロマチン構造を介した非コード DNA ネットワークによる染色体機能の統御>

真核生物染色体はクロマチンという高次構造をとる。クロマチンは、DNA がヒストンタンパク質に巻き付いたヌクレオソーム構造からなる。ヒストンは、状況に応じてアセチル化やメチル化などの化学修飾を受け局所的なクロマチン構造の変化を生じる。非コード DNA はこのクロマチン構造を介して染色体機能を制御していると考えられる。例えば、セントロメアやテロメアの近傍では「閉じた」クロマチン構造（ヘテロクロマチン）が形成され、それぞれの機能に重要な働きをしている。また、複製、凝縮、接着などの相互に連係し染色体全体の構造変換を含む作用については、染色体の本体部の非コード DNA 領域が、特徴的なクロマチン構造を介して協調的に働き全体的な統率を保っていると考えられる。染色体という巨大構造体を統括・制御するためにはこの“非コード DNA ネットワーク”が必須と考えられるが、その実体は不明である。本領域研究では、セントロメア、テロメア以外の染色体“本体部”の非コード機能性配列を総称して“インターメア”と名付け、その特徴及び構造を明らかにする。さらにはテロメア、セントロメアを含んだ 3 メア間でのクロマチン構造を介したネットワークによる染色体統御の全体像を解明する。

(図 1 左)

【全体構想-何をどこまで明らかにするか】

染色体本体部の非コード機能性配列であるインターメアの実体、およびテロメア、セントロメアとの 3 メアネットワークに関わる要素を、次に上げる 4 つの階層に分類し（図 1 右図）、最終的にすべてを統合して染色体を制御するシステムの全体像を解明する。

1) 非コード機能性配列の解析（配列チーム）：

非コード DNA 領域において染色体機能維持に働く種々の DNA 配列と、それに関連するタンパク質・RNA などの役割を明らかにする。

2) 非コード機能性配列のクロマチン構造の解析 (構造チーム) :

インターメア、セントロメア、テロメア (3メア) の上位階層で染色体機能を時空間的に制御している局所的なヌクレオソームの配置、ヒストン修飾などのエピゲノム修飾、クロマチン構造の変化などに関わる因子の同定及び構造解析、そしてそれらの染色体維持における役割を解明する。

3) 染色体維持に働く3メアネットワークの解析 (ネットワークチーム) :

3メアは多くの因子を共有し特徴的なクロマチン構造を介して有機的なネットワーク (クロマチンネットワーク) を形成して染色体を統御していると予想される。その実体を解明する。

4) 染色体維持機構の破綻が細胞機能に及ぼす影響 (病態解析チーム) :

上述の3メア及びそのネットワークの破綻は、染色体維持機構に決定的なダメージを与え、染色体の逆位や転座、遺伝子増幅などの染色体異常の原因になりうる。ひいては、極度な染色体脆弱部位の出現、がん抑制遺伝子の不活化、がん遺伝子の活性化などを通してがん化が起こるほか、細胞死や老化などによる進行性疾患との関わりも生じてくると考えられる。そこで、最上位階層の観点として、3メア及びそのネットワークと老化やがん化などの疾患との関わりを明らかにする。このような疾患メカニズムの基盤研究は、新しい診断方法や治療技術の開発に欠かすことができない。

【本研究が我が国の学術水準の向上・強化につながる点】

我が国の染色体研究分野では、優れた研究者がこれまで次々と現れ、常に世界最先端の水準が維持されてきた。現在、次世代シーケンサーによる個別ゲノム解析や、がんの分子標的医薬や FISH などの遺伝子診断技術の発展により、染色体研究に世界的なブレイクスルーが起こりつつある。そのため、現時点での我が国の有利な立ち位置を維持し、さらに強化することが肝要である。加えてこの大変革期は、学術的・技術的な我が国の優位性をさらにリードできる好機でもある。従って、このような時期に新概念の確立を目指す本領域を設立することはきわめて重要であり急務である。本領域研究の実施を通じて、染色体研究が専門分野を越境した次世代の学術領域に昇華・発展し、我が国の生命科学や医科学の学術水準がより一層向上・強化されることが大いに期待される。

本領域では、強固な信頼関係に立脚した日本的共同研究体制によりセントロメア、テロメアに次ぐ第三の機能性配列の発見や、これらを統合的に制御する新たなメカニズムの解明を目指しており、今後当該分野において世界のイニシャティブをとれると確信している。

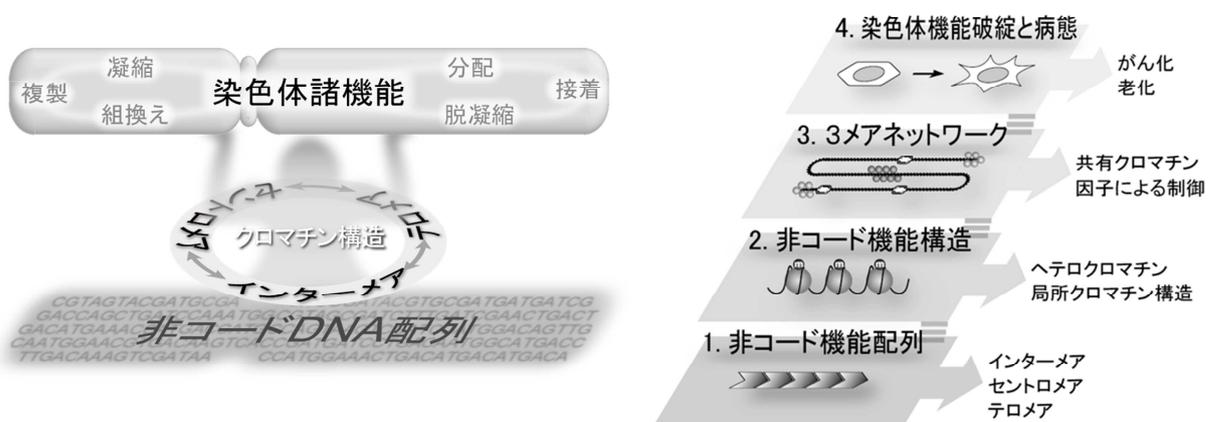


図1 非コード DNA 領域に存在する機能性配列 (3メア: セントロメア、インターメア、テロメア) がネットワークを形成し染色体の機能を支えている (左)。本領域内のチームで取り組む4つの研究階層 (右)。

2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

【連携戦略】 本領域では個人研究の枠を超えた連携を効率良く行うため、全体を4つの階層（プロジェクトチーム。当領域では「研究項目」は設定していない）に分け（図2）、計画班員は其中で親密に計画を練り、研究手段と情報をシェアし共同研究を行っている。各班員が有する独自の実験・測定系を総括班が共通の技術基盤（＝テクノロジーハブ）と認定し、これに関わる講習会開催や経費の一部支援を通じ、班員間の共同研究を促進している。本領域の基盤となるのは、図2のピラミッド構造からも判るように非コード DNA の配列解析である。単離された DNA は太田班と小林班で配列を決め、印南班が解析する「流れ」が確立しており、計画班員の全員と公募班（一部）が連携して実施している（図3）。

【具体的な連携状況】

以下の37件の共同研究が予定されており、現時点で22件が実施済みあるいは実施中となっている（図3）。既に共著の論文として発表済みのものは3件ある。

1) 配列チーム：染色体維持に働く非コード機能性配列の解析（リーダー太田）：

転写制御配列、レトロトランスポゾン、複製開始点、rDNA、テロメアやセントロメアの反復配列、重複遺伝子など、非コード DNA 領域に含まれる機能配列が、染色体機能や動態の制御にどのような役割を果たすかを調べる。現在、計画通り総括班で購入した次世代シーケンサーを駆使し、各班からあがってきた DNA を解析している（担当印南班）。具体的な連携状況は以下の通りである。

1. 太田班と正井班・廣田班（共に公募）との共同研究で、分裂酵母の複製チェックポイントと染色体高次構造変化、および減数分裂期組換え開始を結びつける新因子「リエゾニン」の同定に成功（2012 *Mol. Cell* 誌に発表）。
2. 太田班が中山班（有吉班員）と共同で、上記リエゾニンなどの X 線構造解析を実施する計画が進行中。
3. 太田班が印南班と非コード領域部の解析およびツール開発を行った。現在配列解析のパイプラインが完成し、各班の担当者に利用法を講習するなどしている。
4. 太田班と印南班が減数分裂期の染色体接着部周辺で組換えホットスポットの頻度が低下する現象を見出し、論文を作成中。
5. 太田班と正井班（公募）が分裂酵母 ChIP-Seq（野生型および、*taz1Δ*、*rap1Δ* の分裂酵母中の Rif1 の局在）、マウス ES 細胞 ChIP-Seq(mAND-1)を実施し、良好なデータを獲得済み。
6. 太田班と中山班・小林班・印南班が分裂酵母野生株 32 種のゲノム・シーケンセスを実施済み。
7. 太田班と中山班（須賀班員）が出芽酵母 ChIP-Seq (Sir3 とマウス HP1)を実施済み。
8. 太田班と加納班（公募）が分裂酵母 Hrp3, Rap1 の ChIP-Seq 解析を実施済み。
9. 太田班と大串班（公募）がマウス卵細胞 RNA-Seq を準備中。
10. 太田班と菱田班が慢性低レベル紫外線照射による変異の解析（出芽酵母）の共同研究準備中。
11. 太田班と中山班（須賀班員）が出芽酵母 ChIP-Seq（アフリカツメガエル H1A と B4）を準備中。
12. 太田班と高田班がヒト細胞の ChIP-Seq（FANCD2 の局在）の共同研究準備中。
13. 太田班と升方班（公募）が分裂酵母 ChIP-Seq（ヒストン修飾、RPA、複製因子、クロマチン因子、セントロメア局在因子、キナーゼ、フォスファターゼの局在）の共同研究準備中。
14. 太田班と伊藤班（公募）がヒトおよびマウス ChIP-Seq の共同研究準備中。
15. 加納班が印南班と Taz1, Rap1 局在領域の DNA 配列の共通性を調べ、テロメア結合蛋白質の DNA 結合配列の進化を探る共同研究準備中。
16. 小林班と正井班（公募）で EB ウイルスベクターをもちいてマウスの複製阻害解析を実施中。

2) 染色体維持に働く非コード機能性配列のクロマチン構造解析 (構造チーム、リーダー中山) :

非コード DNA 領域における局所的なヌクレオソーム配置、ヒストン修飾、ヘテロクロマチン形成など、動的に変動するクロマチン構造が染色体機能をどのように制御するか調べる。

17. 中山班と小林班が非コード DNA のモデルである rDNA リピートが分裂酵母の中でどのように制御されているか解析中。
18. 中山班と印南班が自然界から単離された分裂酵母の比較ゲノム解析を行い、非コード DNA 情報の抽出を検討中。
19. 中山班と加納班が Sgo2 結合因子の網羅的質量分析を実施。
20. 中山班と広田班 (公募) がヒト HP1 の挙動について解析中。
21. 太田班と中山班が出芽酵母 Rec114 のリン酸化部位を微量質量分析で同定。
22. 太田班と中山班がリエゾニンなどの X 線構造解析を計画中。
23. 梶川班と中山班 (須賀班員) がレトロトランスポゾン SINE の配列上に構築されるクロマチン構造の解析中。
24. 梶川班と中山班 (有吉班員) が非コード DNA の LINE タンパク質の構造解析を実施中。
25. 小林班と筒井班で RNA 干渉による細胞周期の調整について解析を実施。論文発表済み (2012 BBRC 誌に発表)。
26. 菱田班と中山班 (有吉班員) が DNA 損傷応答に影響するヒストン変異体の構造解析を準備中。

3) 染色体維持に働く 3 メアネットワーク (ネットワークチーム、リーダー舂本) :

染色体の維持に働く諸機能は 3 メアの配列及びクロマチン構造に制御され、それらは互いにネットワークを形成し共通因子により統合的に制御されていると考えられる。それら 3 メアネットワークの実体を、特に非コード DNA 領域に特徴的に見られるヘテロクロマチン間でのクロストークを中心に解明する。

27. 舂本班と中山班が反復 DNA 上でのヒストン交換とヘテロクロマチン因子との関連性について解析中。
28. 舂本班と高田班がセントロメアでのヒストン交換と DNA 損傷修復因子との関連性について解析中。
29. 舂本班と小林班が人工染色体上での非コード DNA の機能解析中。
30. 中山班と舂本班がヒトのアルフォイド DNA の分裂酵母の非コード DNA 配列の挙動を解析準備中。
31. 加納班と升方班 (公募) が sgo2 遺伝子破壊株における late origin の発火状態について解析。
32. 仁木班 (公募) と菱田班が生細胞イメージングによる DNA 二重鎖切断に伴う核様体断片化の可視化に成功 (論文投稿中)。
33. 田中班 (公募) と広田班 (公募) がセントロメアと微小管の位置関係について解析中。

4) 染色体維持機構の破綻による細胞の異常と疾患 (病態解析チーム、リーダー高田) :

染色体維持機構と疾患との関わりについて、染色体不安定性を示すヒト遺伝病である Fanconi 貧血などの原因遺伝子の機能や rDNA 領域における組換えと細胞老化、コピー数変化(CNV)の人為的誘発による表現型への影響などの観点から解析する。

34. 高田班と印南班がFANCIヘリケースの欠損細胞においてインフォマティクス解析を行い、ゲノムに deletionが頻発することを見出した (2011 Genes Cells誌に発表)。
35. 高田班と舂本班がセントロメア関連因子と、ファンconi貧血(FA)コア複合体成分の会合を見出し、セントロメアクロマチンとDNA損傷、複製ストレスが連係するメカニズムの解析中である。
36. 高田班と太田班がChIP-seqを行い、複製ストレス高感受性部位を網羅的に解析中。
37. 高田班と小林班がニワトリDT40細胞においてゲノム維持に関わる遺伝子のノックアウト細胞の作成を準備中。

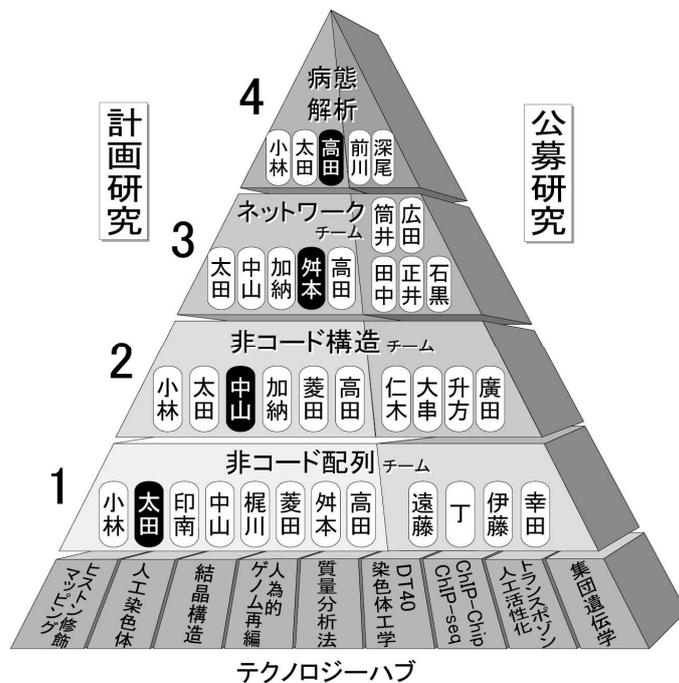


図2 研究体制

計画研究 (9名、分担者については8-11 ページ参照)

小林武彦 (代表、国立遺伝学研)、太田邦史 (東京大)、印南秀樹 (総合研究大学院大)、中山潤一 (名古屋市立大) 梶川正樹 (東京工業大)、菱田卓 (学習院大)、舛本寛 (かずさ DNA 研)、加納純子 (大阪大)、高田穰 (京都大)

公募研究 (15名)

遠藤俊徳 (北海道大)、田中耕三 (東北大)、石黒啓一郎 (東京大)、幸田尚 (東京医科歯科大)、筒井康博 (東京工業大)、深尾敏幸 (岐阜大)、廣田耕志 (首都大)、大串素雅子 (京都大)、升方久夫 (大阪大)、仁木宏典 (国立遺伝学研)、広田亨 (がん研)、前川利男 (理研)、伊藤伸介 (理研)、正井久雄 (都医学研)、丁大橋 (情報通信研)

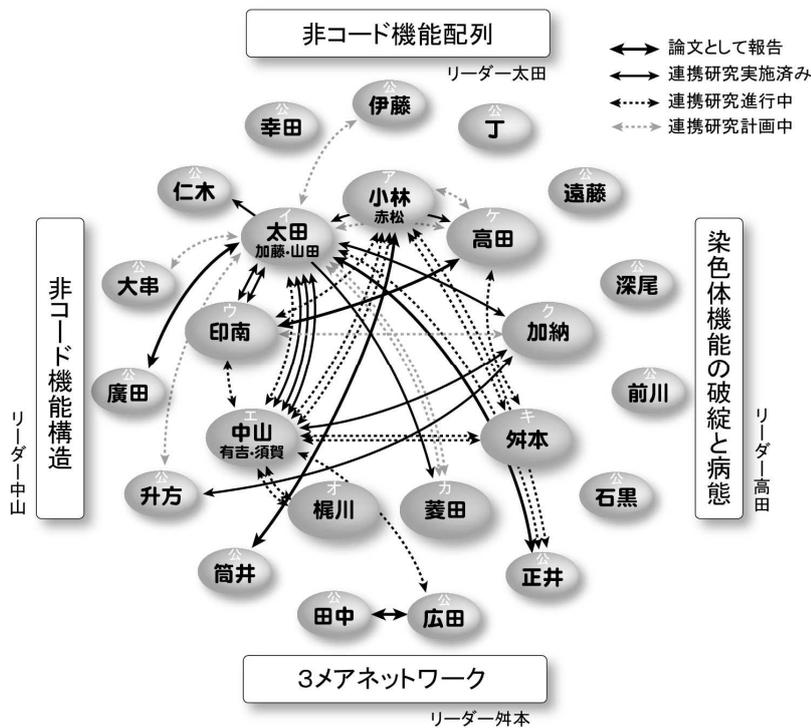


図3 連携状況

3. 研究の進展状況〔設定目的に照らし、研究項目又は計画研究毎に整理する〕（3ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究毎に記述してください。

本領域が目標としているのは染色体の機能維持に働く非コードDNA領域の機能の解明である。また当班が応募時に研究領域として設定した研究の対象は以下の2つである。

(2) 異なる研究分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの。

(3) 多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの。

それぞれに該当する進展状況については（対象2）、（対象3）とし、下の文中に下線で示す。また各班の「設定目標」は領域調書に書いた内容となっており、大きな変更はない。

研究計画ア rDNAの不安定性が染色体及び細胞機能に与える影響

研究代表者：小林 武彦（国立遺伝学研究所・教授・分子遺伝学）

リボソームRNA反復遺伝子(rDNA)は大きな非コードDNA領域を含む巨大反復配列である。出芽酵母ではリピート数を2コピーまで減らして配列を操作し、その後コピーを増幅させることですべてのコピーに特定の変異を導入することが可能で、非コードDNA領域の解析には大変有利である。次の3つを目標として、それぞれ予定通りに進展している。

1) rDNAの安定性に関わる因子の網羅的解析：酵母の遺伝子欠損ライブラリー(4800株)の全株のrDNAの安定性を調べ、それに関わる遺伝子を網羅的に同定しデータベース化した(論文作成中)。結果として約500株のrDNA不安定株を単離し現在グループ分けを行っている。

2) rDNAの安定化機構の解析：1)の結果から4つの代表的な変異株を解析中。そのうちの1つRTT109変異株については、非コードDNAのヒストン修飾の変化が組換えの異常を引き起こしていることを解明した(Plos Genet, 2013)。共同研究としては1)の情報を元に中山班がクロマチン関連の変異株を分裂酵母で、高田班が複製フォークの維持に関わる変異株を動物細胞でそれぞれ解析中である(対象3)。また印南班と連携して比較ゲノム解析により動物細胞のrDNAの安定性に関わる配列を抽出中である(対象2)。

3) rDNAの安定性の変化が細胞機能に及ぼす影響の解析：1)の結果等を踏まえて動物細胞でノックダウンを行っている。既に6ヶの遺伝子を解析し、うち3つ(TTF1、Tim、Tipin)については複製フォークの進行に異常を引き起こしていることを見いだした(投稿準備中)。また酵母でrDNAの安定性を自由に改変できる系を確立し、rDNAの不安定性が細胞老化を引き起こすこと、また非コードDNAからの転写活性がその不安定化を調整していることを発見し、現在論文を投稿中である。

研究計画イ 非コードDNA領域によるゲノムDNA再編成制御機構

研究代表者：太田 邦史（東京大学大学院総合文化研究科・教授・分子細胞生物学）

研究分担者：加藤 由起（東京工業大学大学院生命理工学研究科・助教・生物情報学）

真核細胞のゲノムDNAは変動しながら維持される。ゲノムDNA再編成を制御する非コードDNA領域の機能を、クロマチン構造、反復配列、非コードRNA転写の観点から、全ゲノム的・構成的手法を活用して解明する。次の2つを目標として計画研究はほぼ予定通り進捗し、予想外の発見も得られつつある。

1) 非コード配列のDNA解析ツールや次世代シーケンサーを用いた方法論の確立：

2) 組換えに関わる非コードDNA配列、それに付随するタンパク質、ヒストン修飾パターンの同定：

集団遺伝学の専門家である印南班と共同で、分裂酵母と出芽酵母の減数分裂期組換えホットスポット、姉妹染色分体接着部位のDNA配列を解析し、データベース化した(対象2)。また、次世代シーケンサーから得られる非コードDNA配列データを解析するツールを開発し、パイプライン化することで、解析のスピードが大幅に向上した。次世代シーケンサーを用いたChIP-Seq、RNA-Seq、ゲノム・リシークエンス解析のウェット/ドライ解析系を全て内製化・標準化した。これにより新規組換え調節因子「リエゾニン」同定や組換えホットスポットのヒストンコード解読に至った(Mol. Cell, 2012; NAR, 2013)。分担者の加藤らにより、次世代シーケンサーを用いた少数細胞に関する正確な解析系を開発し、インビトロ転写法で鋳型核酸を増幅してからPCRを行うことで、数千個レベルの細胞から正確なデータを入手することに成功した。

以上の実験系構築の進捗により、現在多数の解析、領域内の共同研究が進行中である(対象3)。

研究計画ウ 集団遺伝学理論と比較ゲノムによる非コード DNA 領域の進化メカニズム

研究代表者：印南 秀樹（総合研究大学院大学先導科学研究科・准教授・集団遺伝学）

本研究では、非コード領域を支配する進化メカニズムを解明する。具体的には、非コード領域にどのような自然選択の力が働き、どのような過程で進化してきたかを明らかにする。アプローチは、理論的なものから、データベース由来のゲノムデータ解析、さらには独自のゲノム配列決定まで、他班と共同で幅広く行う。研究は、以下の3つの目標に対して、ほぼ予定通りに進展している。

1) 分裂酵母の集団遺伝学的解析：多数の野生由来の同種のゲノムを比較すると、ゲノムの個々の領域でまったく違う塩基多型 (SNPs) パターンを観察することが出来る。これは、それぞれの領域に異なった方向性の自然選択が、異なった強さで働いているからである。自然選択は、その領域の機能と深い関わりがあり、塩基多型パターンを解析することによって、分子生物学とは独立な視点から重要な働きをしている領域の「候補」を同定することが出来る。候補領域は、その興味の対象に基づいて、他班に転送され、それぞれの研究室で新しい実験プロジェクトの研究対象となりうる。このように、本研究はdata-drivenのスタイルで行うことになり、将来的に非常に広範囲な研究展開が開けることが期待される。現在までのところ中山班、小林班、太田班と共同で、分裂酵母の38の野生株の全ゲノム塩基配列を次世代シーケンサーで決定した。このデータをもとに集団遺伝学的解析、および比較ゲノム解析を行うことによって、特別な機能を持ちそうな配列の同定、およびそれらの領域における進化的背景の推定を行う（対象3）。

2) 基礎的な進化モデルの理論的解析：非コードを対象とした進化モデルの構築を行っている。例えば、セントロメアを介した種分化のモデル解析は、モデル構築後、舛本班と共同でヒトのセントロメア配列進化に応用している（投稿準備中）（対象2）。その他にも、コピー数変異に関する集団遺伝学的理論、次世代シーケンサーの配列データ解析アルゴリズムの開発などを行った。

3) データベース由来のゲノムデータの進化的解析：NCBIなどのデータベースにあるデータを解析することによって、非コード領域に働く進化的な力の働きを解明した。

研究計画エ 染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能

研究代表者：中山 潤一（名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科・准教授・分子生物学）

分担者：有吉真理子（京都大学物質-細胞システム拠点・特任准教授・構造生物学）

分担者：須賀 則之（明星大学理工学部・准教授・生化学）

本計画研究では、非コード DNA 上にどのように高次クロマチン構造が形成されるのか、その分子機構を明らかにする。以下3つを目標に対して、ほぼ予定通りに進展している。

1) ヘテロクロマチンが反復配列を制御する仕組みの解明：現在までに分裂酵母の巨大反復配列 (rDNA) の動態をモニターできる系を構築し、その安定性を制御する因子の同定を進めている。また、分裂酵母のヘテロクロマチン化を制御する、RNAi 経路の詳細な分子メカニズムを明らかにし報告した (Mol Cell, 2012; PNAS, 2012; Genes Dev, 2012)。さらに、集団遺伝学を専門とする印南班員との共同研究として、次世代シーケンサーを活用した分裂酵母の比較ゲノム解析による非コード DNA の解明を進めている（対象2）。

2) ヘテロクロマチン化の構造基盤の解明：構造生物学を専門とする有吉班員、ヌクレオソーム生化学を専門とする須賀班員との密接な連携の下、HP1 の構造学的な解析を進め、現在までに HP1 のリン酸化がメチル化ヒストンの結合を制御していること、HP1 がメチル化ヒストン非依存的なクロマチン結合を示すことなどを明らかにしている（対象2、3）。

3) ヘテロクロマチンの動態制御の解明：HP1 のリン酸化修飾の制御に着目し、HP1 のリン酸化酵素を同定するとともに、リン酸化によって HP1 のヌクレオソーム結合能が変化することを明らかにしており、それぞれ順調に成果が得られている。

研究計画オ レトロトランスポゾンがもたらす非コード DNA 領域のクロマチン構造変化

研究代表者：梶川 正樹（東京工業大学大学院生命理工学研究科・講師・分子生物学）

高等真核生物の非コード DNA 領域のかなりの部分はレトロトランスポゾンで構成されている。本研究計画の設定目的は、このレトロトランスポゾン配列のエピゲノム情報（クロマチン構造や DNA メチル化）が時空間的にどのように制御されているのか明らかにし、レトロトランスポゾンが非コード DNA 領域の機能やその成り立ちにどのような影響を及ぼしているのか解明することである。次の2つを目標として計画研究はほぼ予定通り進展している。

1) レトロトランスポゾンの新規増幅とクロマチン構造変化

レトロトランスポゾン (LINE および SINE) をゼブラフィッシュ生体内で人工的に転移させる実験系の構築に成功した (投稿準備中)。本実験系を用いて新規転移させた LINE が、転移後すぐに抑制性のヒストン修飾を受けることを明らかにした。一方、新規転移 LINE の DNA メチル化の程度は、転移後すぐでは高くないことを明らかにした。また、ゲノム DNA 上に既に存在する LINE についても解析を行い、ヒストン修飾や DNA メチル化のパターンが LINE の種類に依存して異なることを発見した。これは、レトロトランスポゾンの非コード DNA 領域に及ぼす影響が、レトロトランスポゾンの種類により異なることを示唆する。また、クロマチン構造解析の専門である須賀班員との共同研究で、SINE 配列のクロマチン構造解析が進行中である。加えて、タンパク質構造解析の専門である有吉班員との共同研究で、LINE タンパク質の構造解析が進行中である (対象 2、3)。

2) レトロトランスポゾンクロマチン構造の時空間的制御：

新規転移 LINE を持つゼブラフィッシュを飼育し、様々な発生時期・組織のサンプリングが進行中である。また、新規転移 LINE を受け継いだ第二世代のゼブラフィッシュの作出も進行中である。

計画研究力 非コード DNA 領域が果たす DNA 損傷ストレス耐性機能

研究代表者：菱田 卓 (学習院大学大学院自然科学研究科生命科学専攻・教授・分子遺伝学)

環境レベルの紫外線照射下で染色体上に散在する非コード DNA 領域に生じた変異が染色体や細胞機能に及ぼす影響について解析する。さらに、それらの情報を統合して染色体維持機構に関わる DNA 配列及びクロマチン構造を明らかにする。また、変異の頻度と非コード DNA 領域の特徴を調べ、非コード DNA 領域の持つ DNA 損傷ストレス耐性の実体を明らかにする。以下の 2 つの研究目標を設定し、予定通り進捗している。

1) 慢性的な低レベル紫外線ストレスによるゲノム不安定性の誘発及び防御メカニズムの解明：これまでに、レポーター遺伝子を用いた変異スペクトラム解析が終了しており、新規の変異誘発メカニズムの発見及び、慢性低レベル紫外線特異的な突然変異誘発のメカニズムの解明を行った (NAR, 2012)。太田班との共同研究により、本実験系を用いた全ゲノム変異解析の計画が進行中である (対象 3)。さらに、分子遺伝学的手法を用いたスクリーニングによって、DNA 損傷ストレスに対して抵抗性を獲得するユニークなヒストン H3 及び H4 変異体を同定した。これらのヒストン変異の解析から、損傷ストレス耐性の獲得に重要なクロマチン構造に関する知見が得られることが期待できる。

2) 非コード領域の安定性が DNA 損傷耐性機構に及ぼす影響の解析：染色体の倍数性によって DNA 損傷に対する感受性が変動する変異株を複数同定することに成功している。これらの変異株は、いずれも反復配列の不安定性を引き起こすことから、非コード配列の不安定性と染色体倍数性との関連を明らかにする 1 つの重要な知見である。微生物を使った顕微鏡イメージングに実績のある仁木班との共同研究により、大腸菌を用いた DNA 二重鎖切断のイメージング解析が進行中であり、現在までに、生細胞イメージングによる DNA 二重鎖切断に伴う核様体断片化の可視化に成功している (対象 2)。(論文投稿中)

研究計画キ セントロメア構成因子によるクロマチンネットワークの解析

研究代表者：舩本 寛 (かずさ DNA 研究所・室長・染色体工学)

哺乳類セントロメアの形成機構と、その機能不活性化に関わるヘテロクロマチンの形成機構、染色体の他の領域との機能連係による染色体維持機構への関わりについて人工染色体 tetO/tetR システムを用いて解析する。以下の 3 つの目標を設定し現在順調に進行している。

1) セントロメア機能構成因子の集合メカニズムの解明：人工染色体上の tetO 部位へ 100 種以上の tetR-融合タンパク質を結合させ、セントロメアクロマチン (CENP-A) の増加/減少を定量化した。CENP-A 集合を能動的に促進する (多くのキネトコア関連因子群)、受動的に促進する (クロマチン集合関連因子群)、抑制する (ヘテロクロマチン関連因子群) の各因子群を同定した。今後は他の機能装置に共通する因子の関与を含めセントロメア集合機構とその抑制反応についての詳細な筋道を解明する。

2) 構成的手法によるクロマチンネットワーク解析：tetO 配列を含む合成反復 DNA の宿主染色体異所的挿入部位 (セントロメアとしては不活性化されている) へ、順次 tetR 融合セントロメア構成因子を結合させ、セントロメア構造を部分的に細胞内再構成した。顕微鏡下でこの部位へ集合する相互作用因子をスクリーニングした結果、ヒストン交換やヘテロクロマチンに関連する因子や、転写、組換え、DNA 損傷修復などの他の染色体機能に係る因子が次々に同

定されてきた (Ohzeki et al. 2012 に一部発表)。セントロメアとヘテロクロマチンを関係させる因子の解明については中山班と共同研究を進めている (対象3)。セントロメアと組換え、DNA 損傷修復関連因子との関わりについては高田班との共同研究が進展中である (対象3)。

3) 染色体インテグリティへの影響：細胞老化や分化などの高次生命現象に伴うセントロメアとヘテロクロマチンの構造変化を解析する。反復 DNA 中に出現する CENP-B box へ CENP-B 各種融合タンパクを結合させる系を開発した。今後はセントロメア側からこれら構造形成を攪乱し、染色体制御とクロマチン変換メカニズムが染色体構造全体や高次生命現象に及ぼす影響を観察する。印南班とはセントロメアの進化について共同研究を進めている (対象2)。

研究計画ク テロメア構成因子による染色体の統合的制御機構

研究代表者：加納 純子 (大阪大学蛋白質研究所・准教授・分子生物学)

本計画研究ではテロメアヘテロクロマチンの機能解析をベースとして、“ゲノムワイドな”ヘテロクロマチンネットワークの一員としてのテロメアの機能の解明を目指し以下の2つの研究目標を設定し、予定通り進展している。

1) テロメア蛋白質複合体の新規機能の解明：テロメアは、テロメア結合蛋白質 Rap1 を核とした様々な蛋白質複合体によって多様な染色体維持機能を果たしている。まず、テロメア機能の基盤を明らかにするため、Rap1 のドメイン解析や新規結合因子の探索を行った。さらに、Rap1 のリン酸化修飾が細胞周期の M 期の進行に重要な役割を果たしていることを明らかにした。一方、テロメアと他の染色体領域との機能相関を探るため、テロメア中枢蛋白質 Taz1 および Rap1 のゲノムワイドな局在を解析した。また集団遺伝学が専門である印南班員との共同研究により、Taz1、Rap1 が結合するゲノムワイドな DNA 配列の解析が進行中である (対象2)。

2) サブテロメアを基盤とした染色体機能ネットワークの解析

これまでほとんど明らかにされていないサブテロメア (テロメアに隣接する染色体ドメイン) の生理学的機能を探るため、分裂酵母のサブテロメアをすべて欠失した株を作製した。現在、その株の性質について解析中である。一方、セントロメア蛋白質 Sgo2 が間期にサブテロメアを含む広い領域に局在することがわかった。升方班 (公募) などとの共同研究により、Sgo2 はサブテロメア近傍の late origin の発火タイミング制御に関わること、サブテロメア隣接領域の高度に凝縮したクロマチン構造の構築に必須であることなどが明らかになった (対象3)。

研究計画ケ 複製フォークの安定化機構とその破綻による病態の解析

研究代表者：高田 穰 (京都大学放射線生物研究センター・教授・分子生物学、病態医科学)

高等真核細胞における染色体の様々な非コード DNA 領域には脆弱部位が存在し、それらは DNA 複製が困難な“染色体ストレス”部位となっている。本班では脆弱部位での複製フォーク不安定化のメカニズムと、その維持機構を解析する。以下の3つの目標を設定し順調に進行している。

1) 染色体ストレス高感受性部位の網羅的同定：ニトリ DT40細胞においては染色体観察による脆弱性(断裂)が観察できず、またChIP可能なグレードの抗体作成を目指したが十分な質のものが得られないなどの問題が発生した。そこで、最近実験室レベルで使用が可能となったゲノム編集酵素TALENを用いて、ヒト細胞のFANCD2終止コドンに3 x FLAGタグをノックインすることを試み、細胞を得ることができた。この細胞を用いて現在ChIP条件を検討中である。検討すみ次第、太田班と共同で染色体ストレス下にChIP-seqを行う。また印南班との共同研究によりFANCI欠損細胞におけるゲノムdeletionとG4配列の関連性について明らかにした (対象2)。

2) 複合体プロテオミクスによる複製フォーク安定化と崩壊機構の解析：FANCD2、FANCI、FANCL、ATRIPの各蛋白質の複合体精製とマスペクトロメトリによる成分の同定を行い、様々な既知、未知の会合分子の同定を行った。このうち、特にFANCD2にCtIP分子が会合することに注目して解析を進めている。FANCD2により複製フォーク停止部位にCtIPがリクルートされることが明らかとなり、CtIP分子のFANCD2会合部位も明らかなるなど、順調に進んでいる。また舛本班との共同研究により、セントロメア関連因子とFAコア複合体がともにDNA損傷応答とセントロメア形成に寄与するという仮説のもと、解析が進行中である (対象3)。

3) 染色体ストレス下のチェックポイントキナーゼATRIP-ATR初期活性化機構の解析：FAコア複合体に依存したATRのクロマチン結合機構の存在を明らかにし、ATR活性化のサブ経路であることを示唆する結果を得るなど、順調に進んでいる。

4. 若手研究者の育成に係る取組状況（1ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

領域内の若手研究者については、論文執筆、研究費の効果的な使用法、研究グループのマネジメント、研究発表の組み立て方、公募情報の共有、キャリア開発などにおいて個別にアドバイスをしている。

領域研究に重要な研究技術に対する技術講習会を開催し、各研究グループからの若手の参加を積極的に奨励した。その効果として参加した若手にとっては新たな技術を習得し、異分野や他のグループの研究者との交流を通して研究に対して幅広く考える貴重な機会となった。また主催する側にとっても準備に大変であったが自分たちの研究や技術を見直し、外部からの刺激も受けて、お互いに想定した以上のプラスの効果を生んだ。

領域会議や関連する研究会への資金援助を行い、特に若手の参加費の軽減をお願いし参加を奨励している。

実際に領域発足以来短い期間にキャリアアップした班員が多数出てきているので、指導体制はうまく機能していると判断できる。以下具体例を示す。

1. 加納准教授が大阪大学においてテニユア獲得
2. 梶川講師が東京工業大学において研究室を独立
3. 中山理研チームリーダーの名古屋市立大准教授昇任
4. 菱田准教授の学習院大学教授昇任（領域発足時）

特に任期付のポジションであった加納、中山、菱田班員が終身雇用の職位を得たことは、ご本人のキャリアに取ってはもちろんのこと。本領域を継続する上でも大きなプラスである。

5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

当班のポリシーとして連携研究を進める上では人的のみならず物的な交流も必須であると捉え、各班員が有する独自の実験・測定系を総括班が共通の技術基盤（＝テクノロジーハブ）と認定し、これに関わる講習会開催や経費の一部支援を通じ、班員間の共同研究を促進している。

<講習会>

昨年までに総括班主催の講習会を2回開催した。1回目は2012年2月27日-3月2日24日かずさDNA研究所で舛本班のお世話で「人工染色体(HAC)講習会」、2回目2012年8月22-24日に、東京大学で太田班のお世話で「次世代シーケンサー講習会」を開催し、共にその後の連携研究に多大に貢献している（5-6ページ「連携状況」、5-8、28-30など）。

<総括班購入機器>

総括班研究費で初年度2011年度に次世代シーケンサーを購入した。は、2012年1月には共同利用のためのマニュアルも整備し2012年に完全な状態での運用体制が確立した。技術的な進展としては配列決定だけではなくゲノム解析の新技术であるChIP Seq、RNA Seq、ゲノム・リシーケンスなどをルーチンレベルまでに確立した。データ解析についても、購入したサーバーなどを用いてツールとパイプラインの構築が完了しており、成果の共有を行っている。次世代シーケンサーの稼働状況としては、現在までに6件の領域内共同研究、5件の研究室プロジェクトを実施した。今後さらに9件の共同研究案件の実施がスケジュールに組み込まれている（5ページ、配列チームの連携状況の項参照）。なお、総括班と計画班の消耗品費でこれらの共同研究に必要な試薬やフローセルの一括購入を行い、効率的な運用が可能になっている。

総括班で購入した機器以外も同様のポリシーにより微量質量分析装置などの高額機器の共同利用を実際に行い実際に成果が出ている（例：6ページ、21中山班と加納班の連携研究の例）

<研究費の効果的使用について>

加納班：高解像度3Dライブセル光学顕微鏡および恒温装置（Applied Precision）の導入により、生細胞におけるテロメアと核膜との距離の測定や、経時的な染色体動態の観察が可能になった。その結果、Fujita *et al.*, *Curr. Biol.*, 2012の論文に掲載されたデータを取得することができた。

小林班：オートアルゴリズム機能を持つパルスフィールド電気泳動装置の導入により、観察したい染色体の大きさに最適な泳動条件が予測可能になり高精度なデータが得られた。その結果、今まで判らなかつた変異株の特徴を捉えることに成功し、現在論文投稿中である。

梶川班：リアルタイムPCR装置（TaKaRa, TP870）の導入により、ゼブラフィッシュ生体内で新規転移したレトロトランスポゾン配列の検出および定量が可能になり、研究速度が飛躍的に上昇した。

高田班：ImageQuant LAS4000 miniシステムの購入により、ウェスタンブロットのフィルムに代わるデータ取得が可能となり、解析が容易、確実となった。ライカマイクロシステムズ社製超高感度ディテクターシステムHyD(2HyD)の購入により既存のライカ社製コンフォーカルレーザー顕微鏡の感度をドラマティックに改善することができ、核内に存在する弱いシグナルを超高感度に撮影することが可能となり、核内因子の分布解析に有効利用している。

舛本班：リアルタイムPCR解析システムCFX96、倒立顕微鏡Axio Observer.Z1、(x100対物レンズ、共焦点スキャナ光源、XY電動ステージ等)の購入により人工染色体や異所的部位でのセントロメア因子と相互作用する因子の大規模スクリーニングやクロマチン構造解析が高精度で可能になった。

中山班：パルスフィールド電気泳動装置の購入と、小林班との連携による技術指導によって、分裂酵母内の巨大反復配列であるrDNAの変動を解析できるようになった。実際にrDNAの維持に関わるヘテロクロマチン関連因子を同定に成功した。蛍光顕微鏡BZ9000の購入によって、ヘテロクロマチン因子の細胞内動態を詳細に観察できるようになった。

菱田班：スタックブルインキュベーター44R（イノーバ）を使用することで、出芽酵母の4700の非必須遺伝子破壊株や421種類のヒストンH3、H4変異株などの大量の菌株の培養が可能となり、網羅的な解析に役立った。

6. 総括班評価者による評価（2 ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

総括班評価者として5名の先生にお願いしている。年に1度のペースで領域会議に起こし頂き、ご意見を拝聴している。以下各先生から頂いたコメントである。原文のまま掲載する。

柳田充弘（沖縄科学技術大学院大学・教授）

中間評価報告書を一読した。班会議にも出席しているので、研究が順調に進捗していることはわかっているつもりであったが、書面での報告をも読み、あらためて本研究組織の全体像が把握できた。染色体 DNA に存在する大量の非コード DNA 領域の存在意義、特に染色体維持における役割の解明に向けての多面的アプローチはおおむね順調に成果をあげているようだ。研究者構成はかなりヘテロでありそれが本研究の強みでもある。もとより中間段階での報告であり、完成した研究を期待するのは早すぎるのだろう。現在はどのようなあらたなアプローチを取り、そしてどのような ‘initial discovery’ がなされているかを垣間見せていただければ充分であり、じっさいに報告書もそのようなスタイルをとっている。研究の連携は密に行われており、具体的に予定されている38件の共同研究のうち、現在23件が実際に実施しているとのことである。太田、中山、舛本、高田の4人のリーダーがそれぞれ独自の技術基盤を持ちそれらを基に連携研究を巧みに起こして、まとめ、さらに代表の小林が全体をたばねているようだ。非コード DNA は多様な構造的な様相を有するので、このような研究戦略が効果的であると期待したい。全体的にモデル生物を利用した徹底的な解析を可能とする研究が盛んだが、Fanconi 貧血などの遺伝疾患を対象にしている連携研究も4件あり、これらの研究の発展を期待したい。連携研究の多くはおおむね基盤的なものであり、今後の研究成果が、個々の断片的な研究成果だけでなく、「概念的な進展」に向かうことを強く期待したい。世界の現状は、非コード領域の研究は概念的な部分でいまだ未成熟であり、機能について新概念の創出に勇気を持って困難なプロジェクトに立ち向かうことを大いに期待したい。申請書の書き方は非常に野心的でもあったので、本領域研究からあらたな非コード領域について突破口となる新概念の確立を大いに期待したい。

荒木弘之（国立遺伝学研究所・教授）

現段階での本研究領域の進展は、極めて順調である。多くの共同研究が行われ、既に成果の出ているもの、今後成果が期待されるもの等、領域内での交流が活発であることが分かる。テクノロジーハブとして、器材は有効に利用されているようである。本領域の目的の一つであるインターメアでの重要な配列発見の伊吹のようなものを感じるが、今後の更なる解析により明確化されたものが現れるであろう。既に述べられているが、得られた配列情報から共通の特徴のあるものを拾い出す作業は今後の発展において重要であり、この部分の補強が出来れば、本領域のプラスとなるものと思う。

篠原彰（大阪大学・教授）

新学術領域研究「非コード DNA」の研究はもともとポテンシャルのある研究者による研究領域であるため、研究業績に関しては中間段階を考慮しても特筆すべきものが上がっている。論文数、そして、その質共々も申し分ないと言える。特に、4つの研究項目のうち1つ、非コード機能配列はさまざまな成果が上がっているので、今後の大きな展開が期待できる。今後の課題は領域研究者も自覚しているように、すでにルーチン化した感の強い次世代シーケンサが生み出す大量のデータからいかに重要な情報を抽出するかというデータマイニングの過程であり、そこへの画期的な考えがないと、大量の DNA 配列情報を単純に積み重ねているに過ぎないため、次期2年ではその点を考慮して研究を展開して頂きたい。項目1に関しては今後も大きな進展が期待できる一方、項目2の高次構造に関する研究、項目3のメアネットワーク、項目4の病態との関連は、新学術領域に期待されている研究成果とは何かという点において、一層の努力

が必要と考えられる。

柴田武彦（理化学研究所・上席研究員）

一見機能も構造も雑多な本体部非コード機能性配列について、テロメア、セントロメアと同じレベルで、“インターメア”で括る概念を打ち立てれば、本領域が大いに評価されるであろう。発足後3年目である現時点で、この目標に向けて異なる視点と特技をもつ研究者間の連携に努め、具体的に共同研究として成果が出つゝある状況が報告書から読み取れる。評価体制や研究領域に対する評価とあるが、要は研究成果が上がるかどうかである。個人の好みが大きいが、報告書全体を読んで以下の成果が印象に残った。記載された順で挙げると、まず、本領域代表者小林氏のrDNAの不安定性の影響についての研究成果である *rtt109* 変異でおこる rDNA のローリングサークル型 DNA 複製による超増幅 (Ide *et al.* Plos Genet 2013) である。rDNA などゲノム中の繰り返し配列のコピー数がローリングサークル型 DNA 複製で急速に増加する可能性は、長年取りざたされていたが、初めてその証拠を提示した。次に、分裂酵母の組換え開始、DNA チェックポイントと染色体高次構造変化を統合する新因子「リエゾニン」(Miyoshi *et al.* Mol Cell 2012) を挙げたい。リエゾニンは減数分裂での DNA 複製修了とそれに続く組換え開始の制御を巧妙に説明する。また、「染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能」を研究している中山班の成果である Chp1 のクロマチン結合に RNA への結合とメチル化ヒストンへの結合の共役が重要性を示した研究 (Ishida *et al.* Mol Cell 2012) と、UHRF1 が、タンデム Tudor ドメインと PHD フィンガードメインを介してヒストン H3 の修飾状態を認識し、これら二つのドメイン間のリンカー領域の重要性を示した研究 (Arita *et al.* PNAS 2012) に注目した。いずれも NMR や X 線結晶構造解析の結果を取り入れて真に分子レベルで機構を解明した。他にも今後伸びそうな研究が幾つもみられる。今後、こうした成果をどのように統合するか、その実を示すことが大いに期待される。

平野達也（理化学研究所・主任研究員）

本領域は、発足後2年あまりの短期間のうちに、しっかりとした研究体制が整えられつつある。各チームの役割は明確に位置づけられており、講習会を通じた技術交換、総括班で購入した次世代シーケンサーの運用等についても、班員同士の連携を促進するためのきめ細かい配慮が伺える。多数の領域内共同研究が実施・計画されており、中には既に論文発表に結びついているものもある。大変興味深い未発表データも蓄積している。このように、本領域は、領域代表者の強いリーダーシップのもと、体制作りと成果発表の両面において順調に進展していると高く評価することができる。領域設定期間の後半では、赫奕たる成果を生み出すことが期待できる。今後、計画班メンバーを中心とした連携研究に公募班メンバーをうまく配置することにより、さらに幅広い共同研究と人材育成を推進していくことを望みたい。また、前期2年を終えて、人的に充分でない部分（配列情報の解析、タンパク質構造解析等）も見えてきているようであり、第2期の公募によって適任者をリクルートすることは領域のさらなる発展にとって重要事項となるだろう。本報告書において無理に瑕疵を見つけるとすれば、配列解析チームによる現活動（どういうアプローチで機能配列を抽出しようとしているのか、それをどのようなアイデアで「拾って」いくのか）が、ややわかりにくい点であった。ただ、この問題点については領域代表者も強く自覚しているので、しっかり乗り越えていくものと確信する。

7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理する] (3 ページ程度)

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

(領域内共同研究等による成果には下線を付けてあります)

<計画研究>

小林班：

- 1) 酵母の遺伝子欠損ライブラリー(4800 株)の全株の rDNA の安定性、コピー数を調べ、結果をデータベース化し領域内に発表した（論文と合わせて近々外部に公表予定）。
- 2) 1) により約 500 株の rDNA 不安定株を単離した。予想していた修復関連遺伝子、DNA 複製関連遺伝子、ヒストン修飾関連遺伝子に加え、液胞やミトコンドリア、細胞壁形成、細胞骨格、核膜孔など細胞の構造基盤となる遺伝子、さらには転写、翻訳、タンパク質輸送などに遺伝子の発現に関わる遺伝子など多種多様な遺伝子が rDNA の安定性維持に関わっていることが判明した。これはゲノムの安定性が細胞内のさまざまな要因による影響を多大に受けていることを示す発見である（論文準備中）。
- 3) rDNA 不安定株の 1 つ *RTT109* 欠損株についてはその不安定化の原因を突き止め論文発表済みである（Ide et al, 2013, Plos Genet）。興味深いことにこの変異株では、DNA の修復過程に異常が起こり「ローリングサークル」型遺伝子増幅が誘導される。rDNA のローリングサークル型遺伝子増幅は両生類の卵形成時に見られ短時間で多量のリボソーム RNA を合成するための増幅である。今回の発見が増幅モードの切り替え機構の解明に繋がると期待される。
- 4) 領域内の共同研究（小林班、筒井班）の成果としてテクノロジーハブの 1 つ質量分析器を用いたチェックポイント関連の研究が論文となっている（Iida et al, 2012, BBRC）
- 5) 哺乳動物細胞で rDNA の DNA 複製に影響を与える遺伝子を 3 つ単離した。いずれも非コード DNA 領域で機能するタンパク質をコードしており、これらは哺乳動物細胞の rDNA の安定性に影響をあたえらる（論文準備中）。

太田班：

- 1) 複製細胞周期の研究を行う公募班の正井班、組換え制御の研究を行う廣田班との共同研究で、ChIP chip や質量分析を駆使し、分裂酵母の組換え開始、DNA チェックポイントと染色体高次構造変化の 3 つの異なる過程を統合する新因子「リエゾニン」の同定に成功した(Miyoshi et al., Mol Cell, 2012)。
- 2) 分裂酵母組換えホットスポットに特徴的なヒストン修飾パターンを見出し(Yamada et al., NAR 2013)、組換えホットスポットのヒストン修飾パターンの同定という一つの目標を達成した。
- 3) 次世代シーケンサー解析法の開発担当加藤らにより、複製チェックポイントとフォークの進行の関係が、ChIP Seq 解析により明らかになった(De Pocolo et al., Mol. Cell 2012)。また、ヒトのコルネリデラング症候群における HDAC8 の変異が、姉妹染色分体接着因子のアセチル化サイクルの異常をもたらすことを明らかにした(Deardorf, et al., Nature 2012)。
- 4) 集団遺伝学の専門家である印南班と共同で解析を実施し、姉妹染色分体接着部位周辺で組換えホットスポットが排除される現象を見出し、そのメカニズムを明らかにした(Ito ら、論文準備中)。
- 5) マウスやヒトの組換えホットスポットの決定因子の一つであるヒストンメチル化酵素 Prdm9 について、世界の野生マウスの遺伝子および非コード領域の解析を行い、この遺伝子のイントロン部に組換えホットスポットが存在し、多型を生み出す可能性をあたりに示した(Kohno ら、論文準備中)。
- 6) 大規模ゲノム再編系で出芽酵母およびシロイヌナズナに多様な表現型の変化を誘発し、これらの細胞内で染色体転座、重複、欠失、コピー数変動、変異などが多数起っていることを、次世代シーケンサーによる解析で明らかにした。また、染色体転座の切断点にトランスポゾンがしばしば観察されることを見出した（太田ら、EMBO 会議など；Kugou ら、論文準備中）。
- 7) 分裂酵母の長大遺伝子間領域から転写される長鎖非コード RNA(lncRNA)を RNA Seq で網羅的に解析し、クロマチン再編成やヒストン修飾との関連性を明らかにした(Oda ら、論文準備中；竹俣ら、論文準備中。また、それらの lncRNA が、細胞質に移行後リボソームと結合して、翻訳に共役して分解されること等を明らかにした(Galipon et al, Genes Cells, 2013)。

印南班：

- 1) コピー数変異に関する集団遺伝学的理論を開発した。突然変異率とコピー数変異に働く自然選択の力の相互作用を、理論的に記述した (Teshima and Innan 2012 *Genetics* 190: 1077-1086、Ezawa and Innan 2013 *Heredity* (in press))。
- 2) 次世代シーケンサーの配列データ解析アルゴリズムの開発を行った。このアルゴリズムは、変異サイト (SNP) の同定と同時にハプロタイプの再構築を行うことが新しい (Sasaki, Sugino and Innan 2013 *Mol. Biol. Evol.* (in press))。
- 3) マイクロRNAという20塩基程度の非コード因子が、どのように制御遺伝子の発現抑制を進化させてきたかを、シロイヌナズナのデータを用いて解明した (Takuno and Innan 2011 *Mol. Biol. Evol.* 28: 2429-2434)。
- 4) 遺伝子の並び順がどのように進化して来たかを、パン酵母のゲノムをモデルに解析した。ヌクレオソームや戦車因子結合サイトの配置が、大きく関与していることを解明した (Sugino and Innan 2012 *Mol. Biol. Evol.* 29: 71-79)。
- 5) バクテリアの相同性交叉のパターンをゲノムワイドに解析した。減数分裂を介す真核生物とはまるっきり異なるパターンが見られるものの、その頻度はいままで考えられていた以上に高いことが分った (Takuno et al 2012 *Mol. Biol. Evol.* 29: 797-809)。
- 6) 突然変異系統から効果的にその原因変異サイトを同定する方法の開発に部分的に携わった (Abe et al. 2012 *Nat. Biotech.* 30: 174-178、Takuno et al. 2012 *PLoS One* 7: e46545、Takagi et al. 2013 *Plant J.* 74: 174-183)。

中山班：

- 1) 分裂酵母のヘテロクロマチン形成において、中心的な役割を果たす Chp1 の機能解析を進め、Chp1 のクロマチン結合に RNA への結合とメチル化ヒストンへの結合の共役が重要であることを明らかにした (Ishida et al. *Mol Cell* 2012)。
- 2) 分裂酵母のヘテロクロマチン化に関わる因子の遺伝学的なスクリーニングによって、新新規因子 Ers1 を単離するとともに、この Ers1 が HP1 との結合によって RNA 依存 RNA ポリメラーゼ複合体のリクルートに関わる事を明らかにした (Hayashi et al. *PNAS* 2012)。
- 3) 上記と同様な遺伝学的スクリーニングで単離した分裂酵母の新規因子 Dsh1 が、小分子 RNA の産生に関わり、ヘテロクロマチンの特殊な核内局在を制御する因子であることを明らかにした (Kawakami et al. *Genes Dev.* 2012)。
- 4) DNA メチル化の維持に関わる UHRF1 が、タンデム Tudor ドメインと PHD フィンガードドメインを介してヒストン H3 の修飾状態を認識すること、また二つのドメインをつなぐリンカー領域が、その認識に重要な役割を果たしている事を明らかにした (Arita et al. *PNAS.* 2012)。
- 5) 溶液 NMR 法と生化学的手法を用いてヒト HP1a のヒストン結合制御における N 末端側のリン酸化の影響を調べ、N 末端領域が静電的な作用によってメチル化 H3K9 との結合を制御していることを明らかにした (Ariyoshi 等、論文準備中)。
- 6) ヒト HP1 のリン酸化が CK2 と M 期キナーゼの協調的な働きで細胞周期依存的に制御され、このリン酸化の有無が HP1 の DNA、ヌクレオソーム結合能を制御している事を明らかにした (Nishibuchi 等、論文準備中)。

梶川班：

- 1) 薬剤や薬品によるストレスがレトロトランスポゾン転移に及ぼす影響を培養細胞レベルで解析し、これらのストレスがレトロトランスポゾン転移によるゲノム変異を誘発する可能性を示した。これは、薬剤開発段階でレトロトランスポゾン転移誘発の危険性を考慮する必要性を示唆する (論文投稿中)。
- 2) 哺乳類ゲノムには、数千にも及ぶレトロ偽遺伝子が存在する。レトロ偽遺伝子は LINE レトロトランスポゾンにより生成されるが、なぜ LINE タンパク質が宿主の mRNA をコピーできるのか解明されていない。我々は、LINE タンパク質の RNA 結合ドメインを同定し、このドメインのアミノ酸配列が LINE 間で大きく異なることを発見した。これは、哺乳類 LINE が、RNA 結合ドメインを変化させることで新たに宿主 mRNA との親和性を獲得し、レトロ偽遺伝子を生み出す能力を獲得した可能性を示す (論文準備中)。
- 3) 宿主因子が LINE レトロトランスポゾン転移に関与することを明らかにした。また、この宿主因子の関与が生物種間で大きく異なることを明らかにした。これは、生物種の違いで、転移・増幅するレトロトランスポゾンの種類が異なる可能性を示す (Kajikawa et al. *Gene* 2012)。
- 4) LINE レトロトランスポゾンは、自身の転移に必須のタンパク質を2つコードする (ORF1 タンパク質と ORF2 タンパク質)。このうち、ORF1 タンパク質の転移における機能はいまだ解明されていない。我々は、ゼブラフィッシュ LINE の ORF1 タンパク質が RNA シャペロン活性を持つことを明らかにし、この活性を詳細に解析することで、ORF1 タンパク質が転移中間体内で LINE RNA の構造をダイナミックに変換している可能性を示した (Kajikawa et al. *Gene* 2012、Nakamura et al. *Mol Cell Biol* 2012)。

菱田班：

- 1) 慢性的な低レベル紫外線照射下で酵母細胞を培養できる独自の実験系を用いて、突然変異を誘発する分子メカニ

ズムの解析を行った。その結果、シトシンを含むピリミジンダイマー内の脱アミノ化によって生じるウラシルが突然変異の誘発に関与していることや、急性紫外線照射下では突然変異を抑える働きをしている DNA ポリメラーゼ η が慢性紫外線照射下では変異の誘発に関与していることを明らかにした (Haruta et al. NAR, 2012)。

- 2) DNA 損傷による複製阻害を誘発する *rad18* 変異とヒストン H3 又は H4 変異との二重変異株を 421 種類作製し、DNA 損傷ストレスに対する耐性機能を解析した結果、DNA 損傷に対して高感受性を示す新規のヒストン変異を 10 ヶ所以上同定した。さらに興味深いことに、野生型ヒストンよりも DNA 損傷に対する耐性能力が向上したヒストン H3 及び H4 変異を複数同定した。この成果は、DNA 損傷ストレスに対する染色体構造の役割の解明につながる重要な知見である。
- 3) 出芽酵母の非必須遺伝子破壊株ライブラリー (4,800 株) を用いて、一倍体と比べて二倍体において高い DNA 損傷感受性を示す複数の変異株を同定した。さらに、この倍数性による感受性の違いが相同染色体間の組換え中間体の蓄積によって引き起こされていることや、変異株では DNA 損傷ストレスによって染色体の異数性や反復配列の不安定性が顕著に観察された。本研究結果は、非コード DNA 領域が染色体倍数性の安定性維持に関与することを示唆する重要な知見であると考えられる (論文準備中)。
- 4) 染色体構造維持タンパク質 (SMC) ファミリーに属する RecN の生細胞イメージング解析の結果、GFP-RecN は DNA 損傷に伴う DNA 二重鎖切断部位に局在することを明らかにした。さらに、変異体を用いた解析から、DNA 二重鎖切断に伴う核様体断片化の可視化に成功した (仁木班との共同研究) (論文投稿中)。

舛本班 :

- 1) 人工染色体 tetO 配列に tetR 融合タンパクを結合させる実験系を用いて、ヒストンアセチル化反応は、Mis18 複合体の下流でヘテロクロマチン形成とは拮抗しながらセントロメアクロマチン形成に対して促進的に働くことを明らかにした (Ohzeki et al. EMBO J, 2012)。この成果はセントロメア不活性化の解明に大きな手がかりを与えた。
- 2) 1)の成果は、これまで人工染色体形成が不可能であった細胞株でもヒストンアセチル化反応を補充し過剰なヘテロクロマチン形成を抑制することで人工染色体形成を可能にする技術開発に繋がった (特許出願)。
- 3) 転写活性化反応やヒストン H3K4 メチル化はセントロメアクロマチンの集合維持に対して正に制御することを明らかにした (Bergman et al. EMBO J, 2011, JCS, 2012)。
- 4) ヒストンシャペロンの NAPI は非特異的 DNA 結合活性を低下させることにより、人工染色体や新規 CENP-A クロマチン集合に必要である CENP-B の CENP-B box 配列への特異的結合を増加させる効果があることを明らかにした (Tachiwana et al. NAR, 2013)。
- 5) tetO 配列を組み込んだ合成反復 DNA を宿主染色体の異所的部位へ挿入した系を開発し、Mis18 複合体の下流でセントロメアクロマチン (CENP-A クロマチン) の集合機構に関するセントロメアのヒストンアセチル化酵素複合体の同定に成功した (論文準備中)。

加納班 :

- 1) テロメアでは、テロメア結合蛋白質 Rap1 を核とした様々な蛋白質複合体がテロメア機能に寄与していることが知られているが、それらの複合体の具体的な形成メカニズムは不明である。そこで、分裂酵母の Rap1 における、Rap1 の既知のパートナー蛋白質群の結合ドメインを同定し、それらのドメインの生理学的役割を明らかにした。この成果は、高等生物の Rap1 のドメイン機能の解明につながる重要なものである (Fujita et al., PLoS ONE, 2012)。
- 2) 細胞周期の M 期に核膜が崩壊しない分裂酵母において、染色体分離がスムーズに進行するメカニズムを解析した。その結果、テロメア結合蛋白質 Rap1 が M 期特異的にリン酸化されることによって、核膜蛋白質との相互作用が阻害され、それによってテロメアが一時的に核膜から解離し、染色体の正確な分離が保障されることがわかった。この成果は、これまで知られていなかった M 期におけるテロメア制御・機能を具体的に明らかにした最初のものであり、他の生物種におけるテロメア・染色体機能解析に大いに寄与することが期待される (Fujita et al., Curr. Biol., 2012)。

高田班 :

- 1) FANCL複合体において新規蛋白質C1orf86を同定したが、この蛋白質は我々を含めて同時に5つの研究室で同定され、Blood、PNAS、NatSMB、Mol Cellの四つの論文となって発表された。我々は、Mol Cell. (47, 61-75 (2012))□□に共著者として参加した。
- 2) 複製ストレスの現場でssDNAに結合したRPAへATRIP-ATRキナーゼが蓄積し、下流の基質をリン酸化する。FAコア複合体がこの蓄積を促進する機能を持つことを見出した。また、ATRによりリン酸化される基質の一部がFAコア複合体に依存することを発見した (NAR in press)

- 3) FANCD2の新規結合パートナーであるCtIPを同定し、その結合ドメインを解明した。FANCD2はCtIPを制御することで、停止複製フォークにおこる断裂（DNA二重鎖切断）のプロセッシングに関わる。FANCD2は他にも、Slx4などのヌクレアーゼを制御しており、FANCD2機能におけるヌクレアーゼ群の局在調節の重要性が明らかとなった。
- 4) 早稲田大学胡桃坂研と共同で、FANCD2がヒストンシャペロンであること、ヒストン会合ドメインがC末端に存在すること、DNA損傷修復にヒストンシャペロン活性が必要であることを解明した（EMBO J. 21, 3524-36 (2012)□）。
- 5) 印南班と共同で、ニワトリゲノム上のG4配列とFANCD2欠損細胞におけるゲノム欠損との関連について解析を行い、論文発表した（Kitao et al. Genes to Cells 2011）。

<公募研究>

遠藤俊徳班：深尾班と共同研究で、霊長類特異的な反復配列 Alu の疾患に与える影響を調べるために、Alu 配列を含む全ての遺伝子領域の抽出とサブクラス同定を行った。

田中耕三班：広田班との共同研究により核膜孔複合体の構成因子である Nup188 が染色体分配に関与することを発見した(Cancer Sci. 2013)。

石黒啓一郎班：精子形成において、*Rad21L* 欠損マウス精母細胞では相同染色体の初期ペアリングが著しく低下し、REC8の欠損は逆に初期ペアリング過程よりも組換え反応開始に大きな影響が表れることを発見した。（投稿中）

幸田尚班：マウス単一胚から得られる極微量の RNA を用い、次世代シーケンサーによる RNA-seq 法で顕微授精の影響を受ける遺伝子の同定に成功した。

筒井康博班：Chromosome conformation capture 法によって接合型領域がループ様構造を形成していることを発見した。さらに接合型変換に関わる因子を網羅的に同定した。

深尾敏幸班：Alu 配列による非同義相同組み換えが生じることにより、ミトコンドリアアセトアセチル-CoA チオラーゼ欠損症が発症することを明らかにした（投稿中）。また認識の弱いスプライス部位近傍に存在する Alu 配列は、スプライシング効率に悪影響を与えることを発見した（投稿準備中）

廣田耕志班：複製阻害薬品で発生する染色体の断裂は DNA 2 重鎖切断を伴わないことを発見した。（2013, PLoS One）

大串素雅子班：研究のために使用する多量の卵母細胞を作成する方法として、ES 細胞から始原生殖様細胞へと分化させたのち、卵巣へと移植する方法を確立した。（投稿準備中）

升方久夫班：染色体末端テロメアのリピート配列（2 コピー）が腕部複製開始点近傍に存在し、それらが複製タイミング制御に必須であることを発見した（2012, Genes Dev）。また加納班と共同研究により、サブテロメアがどの領域よりも遅く複製する機構には、M 期にセントロメアで染色体均等分配に働く Shugosin2 が間期にはサブテロメアに局在し、複製タイミング制御に関与することを見いだした。

仁木宏典班：3 種類の分裂酵母の比較ゲノム解析により、複製開始点はヌクレオソーム構造が取りにくい領域に形成されることを発見した。（2012, Genome Biol）。菱田班と共同で生細胞イメージングによる DNA 二重鎖切断に伴う核様体断片化の可視化に成功した（論文投稿中）。

広田亨班：EdU と BrdU を用いて姉妹染色分体をそれぞれ別々の蛍光色素で染め分け、三次元画像解析ソフトによる解析で姉妹染色分体の分離の定量的解析法の開発に成功した。またコヒーションがコンデンシン複合体と Topoisomerase II-alpha (Topo 2)に依存してM期の前期にその大部分が解離することを見出した。

前川利男班：ストレスによって転写因子 ATF-7 がリン酸化されテロメアから外れると、TERT をリクルートできなくなりテロメアが短くなって老化が進行することを解明した。（投稿準備中）

伊藤伸介班：DNA メチル化修飾を消去する Tet1 が CpG アイランドを認識し、CGI の DNA メチル修飾を排除することを発見した。また、CXXC タンパク質が転写抑制複合体であるポリコーム複合体を CGI にリクルートすることを発見した。

正井久雄班：テロメア結合因子 Rif1 は分裂酵母の複製開始部位の選択とタイミングの制御に深く関与することを発見した。（2012, EMBO J）

丁大橋班：配偶子形成時に非コード RNA の meiRNA-L が減数分裂時の染色体対合に寄与することを発見した(2012, Science)

8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

査読付き論文数 135報（計画班95報、公募班40報）、日本語総説・書籍 22報、招待講演 66件、投稿中論文 9報。
領域 HP : <http://www.nsc.nagoya-cu.ac.jp/~jnakayam/ncDNA.html>
各班のホームページ URL は班名の横に記載

論文 - 計画研究（抜粋）

小林班 : <http://www.nig.ac.jp/labs/CytoGen/index.html>

- 1) Ide, S., Saka, K., and *Kobayashi, T. (2013). Rtt109 prevents hyper-amplification of ribosomal RNA genes through histone modification in budding yeast. *PLoS Genet.* 9: e1003410. (査読有り)
- 2) *Poole, AM., Kobayashi, T., and *Ganley, AR. (2012). A positive role for yeast extrachromosomal rDNA circles? *Bioessays* 34: 725-729. (査読有り)
- 3) *Ganley, AR., Breitenbach, M., Kennedy, BK., and Kobayashi, T. (2012). Yeast hypertrophy: cause or consequence of aging? Reply to Bilinski *et al.* *FEMS Yeast Res.* 12: 267-268. (査読有り)
- 4) *Kobayashi, T. (2011). How does genome instability affect lifespan?: roles of rDNA and telomeres. *Genes Cells* 16: 617-624. (査読有り)
- 5) *Ganley, AR., and Kobayashi, T. (2011). Monitoring the rate and dynamics of concerted evolution in the ribosomal DNA repeats of *Saccharomyces cerevisiae* using experimental evolution. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2883-2891. (査読有り)
- 6) Miyazaki, T., and *Kobayashi, T. (2011). Visualization of the dynamic behavior of ribosomal RNA gene repeats in living yeast cells. *Genes Cells* 16: 491-502. (査読有り)
- 7) *Kobayashi, T. (2011). Regulation of ribosomal RNA gene copy number and its role in modulating genome integrity and evolutionary adaptability in yeast. *Cell. Mol. Life Sci.* 68: 1395-1403. (査読有り)

太田班 : (14 報中 12 報記載) <http://www.ohta-lab.c.u-tokyo.ac.jp/>

- 1) Miyoshi, T., Ito, M., and *Ohta, K. (2013). Spatiotemporal regulation of meiotic recombination by Liaisonin. *Bioarchitecture* in press. (査読有り)
- 2) Yamada, S., Ohta, K., and *Yamada, T. (2013). Acetylated histone H3K9 is associated with meiotic recombination hotspots, and plays a role in recombination redundantly with other factors including the H3K4 methylase Set1 in fission yeast. *Nucleic Acids Res.* 41: 3504-3517. (selected as a NAR top 5% "Featured Article") (査読有り)
- 3) Galipon, J., Miki, A., Oda, A., Inada, T., and *Ohta, K. (2013). Stress-induced lncRNAs evade nuclear degradation and enter the translational machinery. *Genes Cells* in press. (査読有り)
- 4) Miyoshi, T., Ito, M., Kugou, K., Yamada, S., Furuichi, M., Oda, A., Yamada, T., Hirota, K., Masai, H., and *Ohta, K. (2012). A central coupler for recombination initiation linking chromosome architecture to S-phase checkpoint. *Mol. Cell* 47: 1-12. (査読有り)
- 5) Kurosawa, K., and *Ohta, K. (2011). Genetic diversification by somatic gene conversion. *Genes* 2: 48-58. (査読有り)
- 6) Morita, T., *Yamada, T., Yamada, S., Matsumoto, K., and Ohta, K. (2011). Fission yeast ATF/CREB family protein Atf21 plays important roles in production of normal spores. *Genes Cells* 16: 217-230. (査読有り)
- 7) Enverald, E., Lindgren, E., Katou, Y., Shirahige, K., and *Ström, L. (2013). Importance of Polη for damage-induced cohesion reveals differential regulation of cohesion establishment at the break site and genome-wide. *PLoS Genet.* e1003158. (査読有り)
- 8) *Deardorff, MA., Katou, Y.(9番目), Hirota, T. (40番目), *Krantz, ID., and *Shirahige, K. (2012). HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesion acetylation cycle. *Nature* 489: 313-317. (査読有り)
- 9) De Piccoli, G., Katou, Y., Itoh, T., Nakato, R., Shirahige, K., and *Labib, K. (2012). Replisome stability at defective DNA replication forks is independent of S phase checkpoint kinases. *Mol. Cell* 45: 696-704. (査読有り)
- 10) Davidson, MB., Katou, Y., Keszthelyi, A., Sing, TL., Xia, T., Ou, J., Vaisica, JA., Thevakumaran, N., Marjavaara, L., Myers, CL., Chabes, A., Shirahige, K., and *Brown, GW. (2012). Endogenous DNA replication stress results in expansion of dNTP pools and a mutator phenotype. *EMBO J.* 31: 895-907. (査読有り)
- 11) Tanaka, S., Nakato, R., Katou, Y., Shirahige, K., and *Araki, H. (2011). Origin association of Sld3, Sld7, and Cdc45 proteins is a key step for determination of origin-firing timing. *Curr. Biol.* 21: 2055-2063. (査読有り)
- 12) *Bermejo, R., , Katou, Y.(12番目), Shirahige, K., *Foiani, M. (2011). The replication checkpoint protects fork stability by releasing transcribed genes from nuclear pores. *Cell* 146: 233-246. (査読有り)

印南班 : (19報中15報記載) http://www.sendou.soken.ac.jp/esb/innan/InnanLab/Index_Jp.html

- 1) Ezawa, K., and *Innan, H. (2013). Competition between the sperm of a single male can increase the evolutionary rate of haploid expressed genes. *Genetics* in press. (査読有り)
- 2) Ezawa, K., and *Innan, H. (2013). Theoretical framework of population genetics with somatic mutations taken into account: application to copy number variations in humans. *Heredity* in press. (査読有り)
- 3) Sasaki, E., Sugino, RP., and *Innan, H. (2013). The linkage method, a novel approach for SNP detection and haplotype reconstruction from a single diploid individual with next generation sequence data. *Mol. Biol. Evol.* in press. (査読有り)

- 4) Kutsukake, N., and *[Innan, H.](#) (2013). Simulation-based likelihood approach for evolutionary models of phenotypic traits on phylogeny. *Evolution* 67: 355-367. (査読有り)
- 5) Yamamichi, M., Gojobori, J., and *[Innan, H.](#) (2012). An autosomal analysis gives no genetic evidence for complex speciation of humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 29: 145-156. (査読有り)
- 6) Yamamichi, M., and *[Innan, H.](#) (2012). Estimating the migration rate from genetic variation data. *Heredity* 108: 362-363. (査読有り)
- 7) Takuno, S., Kado, T., Sugino, R., Nakhleh, P., and *[Innan, H.](#) (2012). Population genomics in bacteria: a case study of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Biol. Evol.* 29: 797-809. (査読有り)
- 8) Teshima, KM., and *[Innan, H.](#) (2012). The coalescent with selection on copy number variants. *Genetics* 190: 1077-1086. (査読有り)
- 9) Akita, T., Takuno, S., and *[Innan, H.](#) (2012). Modeling evolutionary growth of a microRNA-mediated regulation system. *J. Theor. Biol.* 311: 54-65. (査読有り)
- 10) Takuno, S., Terauchi, R., and *[Innan, H.](#) (2012). The power of QTL mapping with RILs. *PLoS ONE* 7: e46545. (査読有り)
- 11) Sugino, RP., and *[Innan, H.](#) (2012). Natural selection on gene order in the genome re-organization process after whole genome duplication of yeast. *Mol. Biol. Evol.* 29: 71-79. (査読有り)
- 12) Fawcett, JA., and *[Innan, H.](#) (2011). Neutral and non-neutral evolution of duplicated genes with gene conversion. *Genes* 2: 191-209. (in "Gene Conversion in Duplicated Genes" edited by H. Innan) (査読有り)
- 13) Mansai, SP., Kado, T., and *[Innan, H.](#) (2011). The rate and tract length of gene conversion between duplicated genes. *Genes* 2: 313-331. (in "Gene Conversion in Duplicated Genes" edited by H. Innan) (査読有り)
- 14) *[Innan, H.](#) (2011). Special Issue: *Gene Conversion in Duplicated Genes*. *Genes* 2: 394-396. (in "Gene Conversion in Duplicated Genes" edited by H. Innan) (査読無し)
- 15) Takuno, S., and *[Innan, H.](#) (2011). Selection fine tunes the expression of microRNA target genes in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2429-2434. (査読有り)

中山班 : <http://www.nsc.nagoya-cu.ac.jp/~jnakayam/>

- 1) Mano, Y., Kobayashi, JT., [Nakayama, J.](#), Uchida, H., and *[Oki, M.](#) (2013). Changes in epigenetic gene expression in yeast are correlated with the HM region but not the telomere and are controlled by a histone acetyltransferase. *PLoS Biol.* in press. (査読有り)
- 2) Kamata, K., Hatanaka, A., Goswami, G., Shinmyozu, K., [Nakayama, J.](#), Urano, T., Hatashita, M., Uchida, H., and *[Oki, M.](#) (2013). The C-terminus of the Sgf73 subunit of SAGA and SLIK is important for retention in the larger complex and for heterochromatin boundary function. *Genes Cells* in press. (査読有り)
- 3) Kawakami, K., Hayashi, A., [Nakayama, J.](#), and *[Murakami, Y.](#) (2012). A novel RNAi protein, Dsh1, assembles RNAi machinery on chromatin to amplify heterochromatic siRNA. *Genes Dev.* 26: 1811-1824. (査読有り)
- 4) Ishida, M., Shimojo, H., Hayashi, A., Kawaguchi, R., Ohtani, Y., Uegaki, K., *[Nishimura, Y.](#), and *[Nakayama, J.](#) (2012). Intrinsic nucleic acid-binding activity of Chp1 chromodomain is required for heterochromatic gene silencing. *Mol. Cell* 47: 228-241. (査読有り)
- 5) Hayashi, A., Ishida, M., Kawaguchi, R., Urano, T., Murakami, Y., and *[Nakayama, J.](#) (2012). Heterochromatin protein 1 homologue Swi6 acts in concert with Ers1 to regulate RNAi-directed heterochromatin assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 6159-6164. (査読有り)
- 6) Shiomi, Y., Ishii, T., Hayashi, A., Shinmyozu, K., [Nakayama, J.](#), Sugasawa, K., and *[Nishitani, H.](#) (2012). Two different RFC proteins, Ctf18 and RFC1 separately control PCNA-CRL4Cdt2-mediated Cdt1 proteolysis during S phase and following UV-irradiation. *Mol. Cell. Biol.* 32: 2279-2288. (査読有り)
- 7) *[Goto, DB.](#), and *[Nakayama, J.](#) (2012). RNA and epigenetic silencing: insight from fission yeast. *Dev. Growth Differ.* 54: 129-141. (査読有り)
- 8) Hatanaka, A., Chen, B., Sun, JQ., Mano, Y., Funakoshi, M., Kobayashi, H., Ju, Y., Mizutani, T., Shinmyozu, K., [Nakayama, J.](#), Miyamoto, K., Uchida, H., and *[Oki, M.](#) (2011). Fub1p, a novel protein isolated by boundary screening, binds the proteasome complex. *Genes Genet. Syst.* 86: 305-314. (査読有り)
- 9) Otani, J., Arita, K., Kato, T., Kinoshita, M., Kimura, H., Suetake, I., Tajima, S., *[Ariyoshi, M.](#), and *[Shirakawa, M.](#) (2013). Structural basis of the versatile DNA recognition ability of the methyl-CpG binding domain of methyl-CpG binding domain protein 4. *J. Biol. Chem.* 288: 6351-6362. (査読有り)
- 10) Arita, K., Isogai, S., Oda, T., Unoki, M., Sugita, K., Sekiyama, N., Kuwata, K., Hamamoto, R., Tochio, H., Sato, M., *[Ariyoshi, M.](#), and *[Shirakawa, M.](#) (2013). Recognition of modification status on a histone H3 tail by linked histone reader modules of the epigenetic regulator UHRF1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 12950-12955. (査読有り)

梶川班 : <http://www.evolution.bio.titech.ac.jp/>

- 1) Terasaki N., Goodier J., Cheung L., Yang Y., [Kajikawa M.](#), Kazazian H., and *[Okada N.](#) (2013). In Vitro Screening for Compounds That Enhance Human L1 Mobilization. *Submitted to PLoS ONE*
- 2) *[Kajikawa, M.](#), Yamaguchi, K., and [Okada, N.](#) (2012). A new mechanism to ensure integration during LINE retrotransposition: a suggestion from analyses of the 5' extra nucleotides. *Gene* 505: 345-351. (査読有り)
- 3) *[Kajikawa, M.](#), Sugano, T., Sakurai, R., and [Okada, N.](#) (2012). Low dependency of retrotransposition on the ORF1 protein of the zebrafish LINE, ZfL2-1. *Gene* 499: 41-47. (査読有り)
- 4) Nakamura, M., *[Okada, N.](#), and *[Kajikawa, M.](#) (2012). Self-Interaction, nucleic acid binding, and nucleic acid chaperone activities are unexpectedly retained in the unique ORF1p of zebrafish LINE. *Mol. Cell. Biol.* 32: 458-469. (査読有り)

菱田班 : http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/bio/laboratory/detail_hishida/theme.html

- 1) Haruta, N., Kubota, Y., and *Hishida, T. (2012). Chronic low-dose ultraviolet induced mutagenesis in nucleotide excision repair-deficient cells. *Nucleic Acids Res.* 40: 8406-8415. (査読有り)
- 2) *Masuda, Y., Suzuki, M., Kawai, H., Hishiki, A., Hashimoto, H., Masutani, T., Hishida, T., Suzuki, F. and Kamiya, K. (2012). En bloc transfer of polyubiquitin chains to PCNA in vitro is mediated by two different human E2-E3 pairs. *Nucleic Acids Res.* 40: 10394-10407. (査読有り)

舛本班 : (13報中12報記載) http://www.kazusa.or.jp/j/laboratories/labo_cellengineering.html

- 1) Lee H-S, Lee NC, Grimes BR, Samoshkin A, Kononenko AV, Bansal R, Masumoto, H., Earnshaw WC, Kouprina N, and *Larionov V (2013) A new assay for measuring chromosome instability (CIN) and identification of drugs that elevate CIN in cancer cells. *BioMed Central Cancer*, 13: 252-269. (査読有り)
- 2) Allshire RC, et al., 57人中34番目(2013). Esperanto for histones: CENP-A, not CenH3, is the centromeric histone H3 variant *Chromosome Res.*, 21(2), 101-106. (査読有り)
- 3) Lee NC, Kononenko AV, Lee H-S, Tolkunova EN, Liskovych MA, Masumoto, H., Earnshaw WC, Tomilin AN, Larionov V, and *Kouprina N (2013) Protecting a transgene expression from the HAC-based vector by different chromatin insulators. *Cell Mol Life Sci.*, May 16. [Epub ahead of print]. (査読有り)
- 4) Tachiwana, H., Miya, Y., Shono, N., Ohzeki, J., Osakabe, A., Otake, K., Larionov, V., Earnshaw, WC., and *Masumoto, H., and *Kurumizaka, H. (2013). Nap1 regulates proper CENP-B binding to nucleosomes. *Nucleic Acids Res.* 41: 2869-2880. (査読有り)
- 5) Ohzeki, J., Bergmann, JH., Kouprina, N., Noskov, V., Nakano, M., Kimura, H., Earnshaw, WC., Larionov, V., and *Masumoto, H. (2012). Breaking the HAC barrier: histone H3K9 acetyl/methyl balance regulates CENP-A assembly. *EMBO J.* 31: 2391-2402. (査読有り)
- 6) Kouprina N, Earnshaw WC, Masumoto, H., and Larionov V(2012)A new generation of human artificial chromosomes for functional genomics and gene therapy *Cell. Mol. Life Sci.*, 70(7), 1135-1148,
- 7) Bergmann JH, Martins NM, Larionov V, Masumoto, H., and Earnshaw WC (2012) HACKing the Centromere Chromatin Code: insights from Human Artificial Chromosomes *Chromosome Res.*, 20(5), 505-519
- 8) Gross, S., Catez, F., Masumoto, H., and *Lomonte, P. (2012). Centromere architecture breakdown induced by the viral E3 ubiquitin ligase ICP0 protein of herpes simplex virus type 1. *PLoS ONE* 7: e44227. (査読有り)
- 9) Bergmann, JH., Rodríguez, MG., Martins, NMC., Kimura, H., Kelly, DA., Masumoto, H., Larionov, V., Jansen, LET., and *Earnshaw, WC. (2011). Epigenetic engineering shows H3K4me2 is required for HJURP targeting and CENP-A assembly on a synthetic human kinetochore. *EMBO J.* 30: 328-340. (査読有り)
- 10) Bergmann JH, Jakubsche JN, Martins NM, Kagansky A, Nakano M, Kimura H, Kelly DA, Turner BM, Masumoto, H., Larionov V, and Earnshaw WC*: Epigenetic Engineering: Histone H3K9 acetylation is compatible with kinetochore structure and function. *J. Cell Science*, 15, 125(Pt 2), 411-421, (2012)
- 11) Kim, JH., Kononenko, A., Erliandri, I., Kim, T., Nakano, M., Iida, Y., Barrett, CJ., Oshimura, M., Masumoto, M., Earnshaw, WC., *Larionov, V., and Kouprina, N. (2011). Human artificial chromosome (HAC) vector with a conditional centromere for correction of genetic deficiencies in human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 20048-20053. (査読有り)
- 12) Takada, Y., Naruse, C., Costa, Y., Shirakawa, T., Tachibana, M., Sharif, J., Kezuka-Shiotani, F., Kakiuchi, D., Masumoto, H., Shinkai, Y., Ohbo, K., Peters, AH., Turner, JM., Asano, M., and *Koseki, H. (2011). HP1 γ links histone methylation marks to meiotic synapsis in mice. *Development* 138: 4207-4217. (査読有り)

加納班 : <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/icr/network/index.html>

- 1) Tarumoto, Y., Kanoh, J., and *Ishikawa, F. (2013). Receptor for activated C-kinase (RACK1) homolog Cpc2 facilitates the general amino acid control response through Gcn2 kinase in fission yeast. *J. Biol. Chem.* in press. (査読有り)
- 2) *Kanoh, J. (2013). Release of chromosomes from the nuclear envelope: a universal mechanism for eukaryotic mitosis? *Nucleus* 4: 100-104. (査読有り)
- 3) Tashiro, S., Asano, T., Kanoh, J., and *Ishikawa, F. (2013). Transcription-induced chromatin association of RNA surveillance factors mediates facultative heterochromatin formation in fission yeast. *Genes Cells* 18: 327-339. (査読有り)
- 4) Fujita, I., Tanaka, M., and *Kanoh, J. (2012). Identification of the functional domains of the telomere protein Rap1 in *Schizosaccharomyces pombe*. *PLoS ONE* 7: e49151. (査読有り)
- 5) Fujita, I., Nishihara, Y., Tanaka, M., Tsujii, H., Chikashige, Y., Watanabe, Y., Saito, M., Ishikawa, F., Hiraoka, Y., and *Kanoh, J. (2012). Telomere-nuclear envelope dissociation promoted by Rap1 phosphorylation ensures faithful chromosome segregation. *Curr. Biol.* 22: 1932-1937. (査読有り)

高田班 : (21報中12報記載) http://house.rbc.kyoto-u.ac.jp/Late_Effect/Japanese_site/Welcome.html

- 1) Tomida, J., Itaya, A., Shigechi, T., Unno, J., Uchida, E., Ikura, M., Masuda, Y., Matsuda, S., Adachi, J., Kobayashi, M., Meetei, AR., Maehara, Y., Yamamoto, K., Kamiya, K., Matsuura, A., Matsuda, T., Ikura, T., Ishiai, M., and *Takata, M. (2013). A novel interplay between the Fanconi anemia core complex and ATR-ATRIP kinase during DNA crosslink repair. *Nucleic Acids Res.* in press. (査読有り)
- 2) Sato, K., Ishiai, M., Toda, K., Furukoshi, S., Osakabe, A., Tachiwana, H., Takizawa, Y., Kagawa, W., Kitao, H., Dohmae, N., Obuse, C., Kimura, H., *Takata, M., and *Kurumizaka, H. (2012). Histone chaperone activity of Fanconi anemia proteins, FANCD2 and FANCI, is required for DNA crosslink repair. *EMBO J.* 21: 3524-3236. (査読有り)

- 3) Nishimura, K., Ishiai, M., Horikawa, K., Fukagawa, T., Takata, M., Takisawa, H., and *Kanemaki, MT. (2012). Mcm8 and Mcm9 form a complex that functions in homologous recombination repair induced by DNA interstrand crosslinks. *Mol. Cell* 47: 511-522. (査読有り)
- 4) Sato, K., Toda, K., Ishiai, M., Takata, M., and *Kurumizaka, H. (2012). DNA robustly stimulates FANCD2 monoubiquitylation in the complex with FANCI. *Nucleic Acids Res.* 40: 4553-4561. (査読有り)
- 5) Ishiai, M., Uchida, E., and *Takata, M. (2012). Establishment of the DNA repair-defective mutants in DT40 cells. *Methods Mol. Biol.* 920: 39-49. (査読有り)
- 6) Shigechi, T., Tomida, J., Sato, K., Kobayashi, M., Eykelenboom, JK., Pessina, F., Zhang, Y., Uchida, E., Ishiai, M., Lowndes, NF., Yamamoto, K., Kurumizaka, H., Maehara, Y., and *Takata, M. (2012). ATR-ATRIP kinase complex triggers activation of the Fanconi anemia DNA repair pathway. *Cancer Res.* 72: 1149-1156. (査読有り)
- 7) Rosado, IV., Langevin, F., Crossan, GP., Takata, M., and *Patel KJ. (2011). Formaldehyde catabolism is essential in cells deficient for the Fanconi anemia DNA-repair pathway. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 18: 1432-1434. (査読有り)
- 8) *Matsushita, N., Endo, Y., Sato, K., Kurumizaka, H., Yamashita, T., Takata, M., and Yanagi, S. (2011). Direct inhibition of TNF- α promoter activity by Fanconi anemia protein FANCD2. *PLoS ONE* 6: e23324. (査読有り)
- 9) Kitao, H., Hirano, S., and *Takata, M. (2011). Evaluation of homologous recombinational repair in chicken B lymphoma cell line, DT40. *Methods Mol. Biol.* 745: 293-309. (査読有り)
- 10) *Takata, M. (2011). Guest editorial: fanconi anemia and the DNA damage response. *Int. J. Hematol.* 93: 415-416 (査読有り)
- 11) Kitao, H., Nanda, I., Sugino, RP., Kinomura, A., Yamazoe, M., Arakawa, H., Schmid, M., Innan, H., Hiom, K., *Takata, M. (2011). FancJ/Brip1 helicase protects against genomic losses and gains in vertebrate cells. *Genes Cells* 16: 714-727. (査読有り)
- 12) Kitao, H., and *Takata, M. (2011). Fanconi anemia: a disorder defective in the DNA damage response. *Int. J. Hematol.* 93: 417-424. (査読有り)

論文 - 公募研究 (抜粋)

田中班: <http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/molonc/index.html>

- 1) Itoh, G., Sugino, S., Ikeda, M., Mizuguchi, M., Kanno, S., Amin, MA., Iemura, K., Yasui, A., Hirota, T., and *Tanaka, K. (2013). The nucleoporin Nup188 is required for chromosome alignment in mitosis. *Cancer Sci.* in press. (査読有り)
- 2) *Tanaka, K. (2013). Regulatory mechanisms of kinetochore-microtubule interaction in mitosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 70: 559-579. (査読有り)
- 3) *Tanaka, K. (2012). Dynamic regulation of kinetochore-microtubule interaction during mitosis. *J. Biochem.* 152: 415-424. (査読有り)

石黒班: http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/watanabe-lab/watanabe_lab/Home.html

- 1) Kim, J., Ishiguro, K., Kudo, N., and *Watanabe, Y. (2013). Meiosis specific cohesins in mouse embryonic oocytes. (2013) *Methods Mol. Biol.* 957: 47-57. (査読有り)
- 2) Morimoto, A., Shibuya, H., Zhu, X., Kim, J., Ishiguro, K., Han, M., and *Watanabe, Y. (2012). A conserved KASH domain protein associates with telomeres, SUN1, and dynactin during mammalian meiosis. *J. Cell Biol.* 198: 165-172. (査読有り)

幸田班: <http://www.tmd.ac.jp/mri/epgn/index.html>

- 1) Kohda, T. (2013). Embryo manipulation via assisted reproductive technology and epigenetic asymmetry in mammalian early development. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368, 20120353 (査読有り)

筒井班: <http://www.iwasakilab.bio.titech.ac.jp/index.html>

- 1) *Yoshikawa, M., Iki, T., Tsutsui, Y., Miyashita, K., Poethig, RS., Habu, Y., and Ishikawa, M. (2013). 3' fragment of miR173-programmed RISC-cleaved RNA is protected from degradation in a complex with RISC and SGS3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 4117-4122. (査読あり)

深尾班: (7報中3報記載) <http://www1.gifu-u.ac.jp/~gifuped/>

- 1) *Fukao, T., Aoyama, Y., Murase, K., Hori, T., Boneh, A., and Kondo, N. (2013). Development of MLPA for human ACAT1 gene and identification of a heterozygous Alu-mediated deletion of exons 2 and 3 in a patient with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency. (Submitted to *Mol. Genet. Metab.*)
- 2) Hori, T., *Fukao, T., Murase, K., Sakaguchi, N., Harding, CO., and Kondo, N. (2013). Molecular basis of two-exon skipping (exons 12 and 13) by c.1248+5g>a in OXCT1 gene: study on intermediates of OXCT1 transcripts in fibroblasts. *Hum. Mutat.* 34: 473-480. (査読有り)
- 3) *Fukao, T., Maruyama, S., Ohura, T., Hasegawa, Y., Toyoshima, M., Haapalainen, AM., Kuwada, N., Imamura, M., Yuasa, I., Wierenga, RK., Yamaguchi, S., and Kondo, N. (2012). Three Japanese patients with beta-ketothiolase deficiency who share a mutation, c.431A>C (H144P) in ACAT1: subtle abnormality in urinary organic acid analysis and blood acylcarnitine analysis using tandem mass spectrometry. *JIMD Rep.* 3: 107-115. (査読有り)

廣田班: http://accafe.jp/biochem_tmu/index.php?FrontPage

- 1) Fujita, M., Sasanuma, H., Yamamoto, KN., Harada, H., Kurosawa, A., Adachi, N., Omura, M., Hiraoka, M., Takeda, S., and *Hirota, K. (2013). Interference in DNA replication can cause mitotic chromosomal breakage unassociated with double-strand breaks. *PLoS ONE* 8: e60043. (査読有り)
- 2) Kikuchi, K., Narita, T., Van, P.T., Iijima, J., Hirota, K., Keka, I.S., Mohiuddin, Okawa, K., Hori, T., Fukagawa, T., Essers, J., Kanaar, R., Whitby, M.C., Sugawara, K., Taniguchi, Y., Kitagawa, K., and *Takeda, S. (2013). Structure-specific

endonucleases Xpf and Mus81 play overlapping but essential roles in DNA repair by homologous recombination. *Cancer Research*, in press (査読有り)

大串班 : http://www.hakubi.kyoto-u.ac.jp/02_mem/h23/ogushi.html

- 1) *Hayashi, K., Ogushi, S., Kurimoto, K., Shimamoto, S., Ohta, H., and *Saitou, M. (2012). Offspring from oocytes derived from in vitro primordial germ cell-like cells in mice. *Science* 338: 971-975. (査読有り)
- 2) *Kyogoku, H., Ogushi, S., and Miyano, T. (2012). Nucleoli from two-cell embryos support the development of enucleolated germinal vesicle oocytes in the pig. *Biol. Reprod.* 87: 113. (査読有り)
- 3) Jitsukawa, M., Kyogoku, H., Ogushi, S., and *Miyano, T. (2012). Effects of proteasome inhibitors on the nucleolar size of porcine oocytes. *J. Reprod. Dev.* 58: 162-166. (査読有り)

升方班 : (6報中4報記載) http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/bio_web/lab_page/masukata/

- 1) Kanke, M., Kodama, Y., Takahashi, TS., Nakagawa, T., and *Masukata, H. (2012). Mcm10 plays an essential role in origin unwinding after loading of the CMG components. *EMBO J.* 31: 2182-2194. (査読有り)
- 2) Handa, T., Kanke, M., Takahashi, TS., Nakagawa, T., and *Masukata, H. (2012). DNA polymerization-independent functions of DNA polymerase epsilon in assembly and progression of the replisome in fission yeast. *Mol. Biol. Cell.* 23: 3240-3253. (査読有り)
- 3) Tazumi, A., Fukuura, M., Nakato, R., Kishimoto, A., Takenaka, T., Ogawa, S., Song, J., Takahashi, TS., Nakagawa, T., *Masukata, H. (2012). Telomere-binding protein Taz1 controls global replication timing through its localization near late replication origins in fission yeast. *Genes Dev.* 26: 2050-2062. (査読有り)
- 4) Tazumi, A., and *Masukata, H. (2012). Telomere-binding proteins play roles in control of replication timing. *Cell Cycle* 11: 4492-4493. (査読有り)

仁木班 : <http://www.nig.ac.jp/labs/MicroGen/>

- 1) Xu, J., Yanagisawa, Y., Tsankov, AM., Hart, C., Aoki, K., Kommajosyula, N., Steinmann, KE., Bochicchio, J., Russ, C., Regev, A., Rando, OJ., Nusbaum, C., Niki, H., Milos, P., Weng, Z., and *Rhind, N. (2012). Genome-wide identification and characterization of replication origins by deep sequencing. *Genome Biol.* 13: R27 (査読有り)

広田班 : http://www.jfcr.or.jp/tci/exppathol/resarch_index.html

1. Shindo, N., Kumada, K., and *Hirota, T. (2012). Separase sensor reveals dual roles for separase coordinating cohesin cleavage and cdk1 inhibition. *Dev. Cell* 23: 112-123. (査読有り)

前川班 : <http://rtcweb.rtc.riken.jp/lab/mg/mg.html>

- 1) Seong, K., Maekawa, T., and *Ishii, S. (2012). Inheritance and memory of stress-induced epigenome change: roles played by the ATF-2 family of transcription factors. *Genes Cells* 17: 249-263. (査読有り)

伊藤班 : <http://www.rcai.riken.jp/group/genetics/index.html>

- 1) Sharif, J., Endo, TA., Ito, S., Ohara, O., and *Koseki, H. (2013). Embracing change to remain the same: conservation of polycomb functions despite divergence of binding motifs among species. *Curr. Opin. Cell Biol.* in press. (査読有り)

正井班 : (8報中4報記載) <http://www.igakuken.or.jp/genome/>

- 1) Yamazaki, Hayano, M. and *Masai, H. (2013) Replication timing regulation of eukaryotic replicons: Rif1 as a global regulator of replication timing. *Trends in Genetics* in press (査読有り)
- 2) Yamazaki, S., Ishii, A., Kanoh, Y., Oda, M., Nishito, Y. and *Masai, H. (2012). Rif1 protein is a key regulator of the genome-wide DNA replication timing in human cells. *EMBO J.* 31, 3167-3177. (査読有り)
- 3) Hayano, M., Kanoh, Y., Matsumoto, S., Shrahige, K. and *Masai, H. (2012). Rif1 is a global regulator of timing of replication origin firing in fission yeast. *Genes Dev.* 26, 137-150. (査読有り)
- 4) Moriyama, K., Yoshizawa-Sugata, N., Obuse, C., Tsurimoto, T. and *Masai, H. (2012). EBNA1-dependent recruitment of Orc on OriP of Epstein-Barr virus with purified proteins: Stimulation by Cdc6 through Its direct interaction with EBNA1. *J. Biol. Chem.* 287, 23977-23994. (査読有り)

丁班 : http://www2.nict.go.jp/advanced_ict/bio/w131103/CellMagic/index.html

- 1) Ding, DQ., Haraguchi, T., and *Hiraoka, Y. (2012). Chromosomally-retained RNA mediates homologous pairing. *Nucleus* 3, 516 – 519. (査読有り)
- 2) Ding, DQ., Okamasa, K., Yamane, M., Tsutsumi, C., Haraguchi, T., Yamamoto, M. and *Hiraoka, Y. (2012). Meiosis-specific non-coding RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis. *Science* 336, 732-736. (査読有り)
- 3) Yamashita, A., Shichino, Y., Tanaka, H., Hiriart, E., Todeschini, L., Vavasseur, A., Ding, DQ., Hiraoka, Y., Verdel, A. and *Yamamoto, M. (2012). Hexanucleotide motifs direct on and off of the selective elimination of meiosis-specific mRNAs. *Open Biology* 2, 120014. (査読有り)

書籍 (抜粋)

- 1) 小林武彦他 (2013)「岩波 生物学辞典 第5版」、総ページ数 2171、岩波書店
- 2) 小林武彦、坂季美子 (2011)「パルスフィールド電気泳動法」、実験医学 別冊「核酸実験の原理とプロトコール」、p85-91、羊土社
- 3) 小林武彦 (2011)「核小体の新機能」、生体の科学 62巻5号、p412-415、医学書院
- 4) 小林武彦 (2011)「リボソーム RNA 遺伝子の安定性と細胞老化」、生体の科学 62巻5号、p416-417、医学書院
- 5) 太田邦史 (2013)「理系総合のための生命科学 第3版」、共著、羊土社
- 6) 太田邦史 (2013)「キャンベル生物学 第9版」、共訳、丸善出版

- 7) 太田邦史、小田有沙、Josephine Galipon、竹俣直道、三好知一郎、廣田耕志(2011) 「長鎖 ncRNA によるクロマチン・転写活性化の制御」実験医学 29: 1722-1727
- 8) 太田邦史(2011)「環境応答とエピゲノム」Endocrine Disrupter News Letter 14:6
- 9) Kurosawa K., Waka L., and *Ohta K. (2013) Chimeric antibodies In “Human Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols”(eds Michael Steinitz, Springer)
- 10) 中山潤一 (2011) ヘテロクロマチンタンパク質HP1、生体の科学 62巻5号、p466-467
- 11) 中山潤一 (2013) エピジェネティクス (Science Special)、スクエア最新図説生物 neo、第一学習社
- 12) 中山潤一 (2013) 岩波生物学事典 第5版、岩波書店
- 13) 加納純子 他 (多数の著者の一人として) (2013) 「生物学辞典第5版」岩波書店
- 14) Kim, J., Ishiguro, K., Kudo, N., *Watanabe, Y. Meiosis specific cohesins in mouse embryonic oocytes. (2013) Methods in Molecular Biology 957: 47-57.
- 15) 小林武彦、(2012) 雑誌「実験医学」において小林が「非コード DNA 領域研究」の特集号の編集を行い、当班員の太田、印南、中山、高田、深尾が執筆した

アウトリーチ活動 (1~3は領域の主催)

- 1) 小林武彦、赤松由布子：(中高生向け講習)「生命科学研究への誘い」と題し職場体験を指導した。(2011,2012).
- 2) 舛本寛：(講習会)人工染色体講習会開催、かずさDNA研究所(2012.2.27-2012.3.2)
- 3) 太田邦史：(講習会)次世代シーケンサー講習会開催、東京大学(2012.8.22-24)
- 4) 加納：(中高生向け講演)九州大学エクセレント・スチューデント・イン・サイエンス育成プログラム講師(2011.10.15)
- 5) 高田穰：(一般向け講演)ゲノムへのストレスとの戦い：生命の適応戦略を考える「内なる敵アルデヒドの攻撃からゲノムを守るー「体内浄化」と「傷の修理」の二つの戦略ー 第33回品川セミナー 2013年2月1日 品川
- 6) 菱田卓：(中高生向け講演)「放射線が生物に与える影響に関する講義 (DNA 損傷や発がんなど)、文京区立茗台中学校 (2012.2.15)、文京区立第十中学校 (2012.3.2)、文京区立第六中学校 (2013.3.4)
- 7) 大串素雅子：(一般向け講演)京都大学 “生命って何?～生命の始まりから終わりまで～”(2012.9.23)
- 8) 大串素雅子：(中高生向け講演)兵庫県明石高校、「マウスの解剖を通して生命倫理を考える」(2013.1.18)
- 9) 丁：(一般向け講演)未来 ICT 研究所、染色体のお見合いをライブで観る(2012.7.28)

領域によるシンポジウム、研究会の主催、共催 (4件、ただし領域会議は除く)

染色体 WS・核ダイナミクス研究会(2012.12.19-21 淡路)、3R 国際シンポジウム(2012.11.25-28 淡路)、第3回高次クロマチン構造研究会(2012.8.6-8 神戸)、染色体ワークショップ (2012.1.25-27 仙台)、

班員によるシンポジウム、研究会の主催等

- 1) 小林、太田、菱田、升方、正井、仁木：International symposium on Replication, Recombination and Repair (3R) 組織委員、(2012.11 淡路夢舞台)
- 2) 加納：第35回日本分子生物学会年会・高校生ポスター発表・ディスカッサー(2012.12.14. 福岡)
- 3) 菱田：学習院大学生命科学シンポジウム主催 (2012.11.10: 2013.5.25.東京)
- 4) 菱田：第10回21世紀大腸菌研究会主催 (2013.6.21-22. 伊豆)
- 5) 加納：第84回日本生化学会大会組織委員およびシンポジウム企画 (2011.9.24. 京都)
- 6) 大串：第105回日本繁殖生物学会サテライトシンポジウム(2012.9.10 東京大学)

9. 今後の研究領域の推進方策（2 ページ程度）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

総じて順調に進行しており、当初の計画から大きな変更はない。当班の研究計画の全体の流れでは前半でデータの蓄積や包括的なスクリーニング、後半でその解析と「作って調べる」あるいは「壊して調べる（変異株の解析）」手法により特徴的な配列の機能を探る。ただこれはうれしい悲鳴であるが、予想以上にたくさん配列が出て来ており解析を当初の計画よりもさらにシステムティックに行う必要がある。そのため公募班では配列解析を得意とする研究者を募りたい。以下各チームの具体的な方策について述べる。

配列解析チーム

<今後の方策>

次世代シーケンサーの運用が軌道に乗り、当班の連携研究の柱である配列解析を基盤とした機能配列の抽出プロジェクトは順調に進行中である。すでいくつかの興味深い知見が得られているが、最後の2年間は当初の予定通り、蓄積される莫大な配列データを解析し「意味のある配列（機能性非コード配列）」を効率的に抽出することに重点を置く。これまで通り印南班の集団遺伝学的解析法を用いた解析を行うほか、現在ビックデータに関する非線形時系列解析の専門家である東京大学生産研の平田祥人特任准教授とも協力して、新たな配列解析ソフトウェアの開発を実施中である。また、現在進行中の野生の分裂酵母株間の非コードDNA領域配列の比較により、機能性領域の抽出を加速したい。

<問題点と対応策>

現在、計画班メンバー等の解析から得られた配列情報をもとに、印南班・太田班を中心とした情報解析を行っている。これまでの状況から判断すると、得られるデータは予想以上に膨大である。これらのデータをネットワーク的に共有管理し、効率的に解析する体制の構築が必要である。これは、データを個々の分野のエキスパートが独自の観点で自ら解析することが可能になり、予想を超えた成果に発展すると期待される。現在、クラウドコンピューティングなどを利用する形で、これを実現すべく計画を練っている。また、データ解析技術に関する勉強会などを通じ、班員間でのスキルの共有を図る。元々非コードDNA配列は「ジャンク」ゴミとして扱われていた時代もあり、「捨てればゴミ、拾えば資源」という言葉があるように、どれだけ多面的な見方により重要配列を拾い上げられるかが勝負である。

<公募班での重点的補充>

上のような事情から広い視野で配列解析が出来る「拾い上手」な研究者の増員が望まれる。現在計画班に2名、応募班に1名その方面に明るい班員がいるが、あと2名ほどユニークな視点をもった配列解析の提案があると望ましい。ただ前回の公募では、そのような指向性のあるかた方の応募はそれほど多くなかった。そこで今回は、新人発掘と従来の分野と異なる研究者に対し公募班への参加アピールの意味もこめて、領域横断的な国内ワークショップを企画している。

<国内外の研究者との連携による組織の強化>

平成25年8月に葉山で国際シンポジウムを行い海外の有力な研究者と情報交換の場を設ける予定である。

構造チーム

<今後の方針>

非コードDNAがどのように染色体の機能を制御する機能ドメインを構築しているのか、そのクロマチン構造形成のメカニズムの解明に向けて引き続き解析を進める。特に、非コード配列解析チームから抽出された「意味のある配列」が実際にどのようなクロマチン構造を取っているのか、次世代シーケンサーをChIP-seq法に活用し、ヒストンの修飾状態やクロマチン構造との相関を解明していく。また、構造チームの各班員が着目するクロマチン因子がどのようなメカニズムで非コードDNAの高次クロマチン化に関わっていくのか、NMRや結晶構造解析によって、その構造からメカニズムに迫ることが肝要である。構造解析を専門とする有吉班員との領域内連携を今後も促進し、DNA配列からクロマチン上の修飾、そしてその制御因子の構造までの知見を統合してチームの目的達成に貢献したい。

<問題点と対策>

次世代シーケンサーが順調に稼働し、ChIP-seqに関しては特に問題なくスムーズに進められると考えられるが、有吉班員との連携によって構造解析を進めるに際して、全ての行程を有吉班員に任せるのでは非常に効率が悪く、班員一人の大きな負担になることが予想される。各班員にタンパク質調製や部分精製法な

どの生化学的手法のノウハウを広め、各班員がある程度の行程までタンパク質の調製を進められるようにするほか、構造解析に中心的に携わる人員を各班員が確保する等の工夫によって解決できると考えている。

<公募班での重点補充>

上記のような理由から、クロマチン関連因子の構造解析を中心に進めることが出来るような班員を公募によって充当できれば望ましいと考えている。

<国内外の研究者との連携による組織の強化>

国内外の研究会に積極的に参加し、当該チームの研究に関わる他の研究者との連携を模索するとともに、平成27年に予定されている国際シンポジウム「インターメアによる染色体制御」において、構造チームの研究と関わりの深い国内外の演者を招待し、成果の発展につながる交流を作りたいと考えている。

ネットワークチーム

<今後の方策>

3メアネットワークの実体解明に向けては、異所的セントロメア構造を作り出し相互作用する因子を検索した解析から、ヒストン交換反応やヘテロクロマチンに関連する因子、転写、組換え、DNA損傷修復などの他の染色体機能に係る因子などが多数同定されてきている(舛本班)。これらの因子はネットワークを担う実体である可能性が高い。進展中のセントロメアとヘテロクロマチン(中山班)、複製ストレスと損傷修復(高田班)との連携に加え、今後は3メアネットワークの統合的実体解明へ向けて、テロメア(加納班)、修復組換え(太田班、菱田班)、rDNA領域の安定維持(小林班)などの染色体諸機能間についての連携研究を加速させる。印南班は情報処理やシミュレーションをフルに活用して連携する。ゲノムに散在するレトロトランスポソンの抑制機構(梶川班)は染色体全体に及ぶネットワーク解明への重要課題になる可能性がある。

<問題点と対応策>

実験系の違いは(例えば酵母と哺乳類)連携研究の壁となる場合もあるが、ChIP-seqやマス解析、構造解析などの方法論による連携研究を積極的に展開していく。また印南班からの配列情報を活用しながら他の系への拡張を目指し、本領域の特徴である「作って調べる」方法を駆使しそれぞれの系でのネットワークの解明を進める。

<公募班での重点的補充>

ヒストン交換反応やヘテロクロマチンを作り出し維持する機構は3メアネットワークの実体解明へ向けてもキーとなる可能性が高い。幸い重要メンバーにヘテロクロマチンの専門家(中山班)はいるので、ヒストン交換反応に明るい専門家の加入は3メアネットワークの実体解明に向けて大きな力となる可能性がある。

病態解析チーム

<今後の方策>

当初の予定通り配列、構造、ネットワークの各チームの見つけ出した配列と因子の機能を、DT40におけるノックアウト細胞の作製や、ヒト細胞におけるノックダウン、ゲノム編集を中心とした方法で探っていく。

<問題点と対応策>

膨大な因子が同定されてきており、すべての因子のノックアウト、ノックダウンは不可能で、どの因子を重点的に解析するかが問題である。その意味では限定的なsiRNAスクリーニングにより因子の絞り込みを行う。機能配列についても同じであり、適切な優先順位付けが要求される。TALENやCRISPR/CASなど新しいゲノム編集技術の導入もはかる。

<国内外の研究者との連携による組織の強化>

現在、次世代シーケンサー技術の飛躍的進展に伴い、さまざまなヒト病態における遺伝的基盤の解析が急速に進行しつつあると思われる。これらの疾患の中には、本領域研究が扱っている分子と直接間接に関連するものが存在している。長期のビジョンをもち、医学系研究者との情報交換、交流に努める。

10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画（研究代表者の変更は真にやむを得ない場合に限る）（2～5ページ程度）【非公開】※本欄に記載の計画研究については、全て3年度目の審査の対象となります。

領域内の計画研究の研究代表者の交替や組織体制に大幅な変更がある場合（新しく計画研究を追加する場合や既存の計画研究を廃止する場合、領域全体の交付予定額の範囲内で各計画研究の研究経費を変更する場合（計画研究に係る経費を減額し、公募研究に係る経費を増額する場合等））には必ず記入してください。その際、以下の点を含めてください。

- ・計画研究を追加する場合は、追加の必要性、その計画研究が領域内で果たす役割、他の計画研究への影響等
- ・計画研究を廃止する場合は、廃止の理由、当該計画研究を廃止しても領域として支障がないことの説明等
- ・研究代表者の交替の場合は、交替の必要性、新旧の研究組織の異なる点（組織構成、領域内で果たす役割等）、新たに研究代表者になろうとする者が、旧研究代表者に替わって研究を実施できることの根拠、妥当性及びその者の研究業績等
- ・計画研究に係る経費と公募研究に係る経費の額の変更については、その必要性、1回目の公募研究の応募・採択状況等（公募研究に係る経費を減額して計画研究に係る経費を増額する変更は真にやむを得ない場合に限る。また、公募研究の規模に係る最低基準を下回らないこと。）
- ・以上の各変更に伴う他の計画研究の研究経費の変更及びその妥当性等

該当せず。