

領域略称名：非コード DNA  
領域番号：3305

平成 28 年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「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 28 年 6 月

領域代表者 (東京大学・分子細胞生物学研究所・教授・小林 武彦)

# 目 次

1. 研究領域の目的及び概要	5-6
2. 研究領域の設定目的の達成度	7-9
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	10
4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況	11
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	12-14
6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	15-19
7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況	20-21
8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	22-25
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	26
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	27
11. 総括班評価者による評価	28-29

**研究組織** (総括：総括班，計画：総括班以外の計画研究，公募：公募研究)

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00 総括	23114001 ゲノムを支える非コードDNA領域の機能	平成23年度～平成27年度	小林 武彦	東京大学・分子細胞生物学研究所・教授	9
A01 計画	23114001 rDNAの不安定性が染色体及び細胞機能に与える影響	平成23年度～平成27年度	小林 武彦	東京大学・分子細胞生物学研究所・教授	5
A01 計画	23114003 非コードDNA領域によるゲノムDNA再編成制御機構	平成23年度～平成27年度	太田 邦史	東京大学大学院・総合文化研究科・教授	2
A01 計画	23114004 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	平成23年度～平成27年度	印南 秀樹	総合研究大学院大学・先導科学研究科・准教授	1
A01 計画	23114005 染色体維持におけるヘテロクロマチンの機能	平成23年度～平成27年度	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・教授	5
A01 計画	23114006 レトロトランスポゾンをもたらす非コードDNA領域のクロマチン構造変化	平成23年度～平成27年度	梶川 正樹	東京工業大学・大学院生命理工学研究科研究科・講師	1
A01 計画	23114007 非コードDNA領域が果たすDNA損傷ストレス耐性機能	平成23年度～平成27年度	菱田 卓	学習院大学・理学部・教授	1
A01 計画	23114008 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	平成23年度～平成27年度	舛本 寛	公益財団法人かずさDNA研究所・先端研究部・室長	2
A01 計画	23114009 テロメア構成因子による染色体の統合的制御機構	平成23年度～平成27年度	加納 純子	大阪大学・蛋白質研究所・准教授	2
A01 計画	23114010 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	平成23年度～平成27年度	高田 穰	京都大学・放射線生物研究センター・教授	1
計画研究 計 10 件					
A01 公募	24114501 インターメア機能配列の情報量規準と機械学習による同定および進化的解析	平成24年度～平成25年度	遠藤 俊徳	北海道大学・情報科学研究科・教授	1
A01 公募	24114502 セントロメアと微小管の位置関係による染色体分配制御機構の解明	平成24年度～平成25年度	田中 耕三	東北大学・加齢医学研究所・教授	5
A01 公募	24114503 減数分裂特異的コヒーシ複合体における相同染色体の構造変換と対合に関する解析	平成24年度～平成25年度	石黒 啓一郎	東京大学・分子細胞生物学研究所・助教	1
A01 公募	24114505 胚操作によって誘導されるエピゲノム変化	平成24年度～平成25年度	幸田 尚	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授	1

A01 公募	24114506 機能性非コード DNA 領域 が制御する分裂酵母接合型 変換の動態解析	平成24年度～ 平成25年度	筒井 康博	東京工業大学・生命理工学研究科・助教	1
A01 公募	24114508 Alu 配列と遺伝性疾患の病 態に関する研究	平成24年度～ 平成25年度	深尾 敏幸	岐阜大学・医学系研究科・教授	2
A01 公募	24114509 複製ポリメラーゼδによる 複製フォークの安定化機構 の解明	平成24年度～ 平成25年度	廣田 耕志	首都大学東京・理工学研究科・教授	1
A01 公募	24114510 卵母細胞核小体によるヘテ ロクロマチン確立機構の解 明	平成24年度～ 平成25年度	大串 素雅子	京都大学・白眉センター・助教	1
A01 公募	24114511 非コード DNA 領域による ゲノム複製タイミング制御 機構の解明	平成24年度～ 平成25年度	升方 久夫	大阪大学・理学系研究科・教授	1
A01 公募	24114516 染色体を折り畳むための DNA 領域の機能	平成24年度～ 平成25年度	仁木 宏典	国立遺伝学研究所・系統生物研究セン ター・教授	1
A01 公募	24114517 SMC 複合体による姉妹染色 分体の構造変換制御	平成24年度～ 平成25年度	広田 亨	がん研究会・実験病理部・部長	1
A01 公募	24114518 転写因子 ATF7 を介した、 ストレスによるテロメアの 長さの変化と老化の促進	平成24年度～ 平成25年度	前川 利男	理化学研究所・石井分子遺伝学研究 室・研究員	1
A01 公募	24114519 CpG アイランドを制御する CXXC タンパク質の機能解 析	平成24年度～ 平成25年度	伊藤 伸介	理化学研究所・免疫・アレルギー科学 総合研究センター・研究員	1
A01 公募	24114520 染色体の核内高次構築を支 配する非コード領域とそれ を制御するタンパク質の解 析	平成24年度～ 平成25年度	正井 久雄	東京都医学総合研究所・ゲノム医科学 研究分野・副所長	1
A01 公募	24114521 相同染色体認識における非 コード DNA の役割	平成24年度～ 平成25年度	丁 大橋	独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT 研究所バイオ ICT 研究室・主任研 究員	1
A01 公募	26114702 紡錘体微小管と非コード DNA 領域の相互作用による 染色体の空間的制御	平成26年度～ 平成27年度	田中 耕三	東北大学・加齢医学研究所・教授	6
A01 公募	26114703 疾患と相関する進化的に保 存された機能性非コード領 域の情報工学的網羅探索法 の開発	平成26年度～ 平成27年度	高橋 広夫	千葉大学・園芸学研究科・准教授	4
A01 公募	26114708 ヒトゲノムにおける Alu 配 列の遺伝性疾患、遺伝的多 様性に与える影響に関する 研究	平成26年度～ 平成27年度	深尾 敏幸	岐阜大学・医学系研究科・教授	2
A01 公募	26114710 非コード DNA による染色 体複製制御機構の解明	平成26年度～ 平成27年度	升方 久夫	大阪大学・理学系研究科・教授	1
A01 公募	26114711 セントロメア再編の分子メ カニズム	平成26年度～ 平成27年度	中川 拓郎	大阪大学・理学系研究科・准教授	1

A01 公募	26114713 ゲノムワイド解析による複製開始複合体形成制御とクロマチン制御連携の解明	平成26年度～平成27年度	藤田 雅俊	九州大学・大学院薬学研究院・教授	4
A01 公募	26114714 DNA合成に干渉する非コード配列での複製フォーク適応機構の研究	平成26年度～平成27年度	釣本 敏樹	九州大学・理学系研究院・教授	1
A01 公募	26114715 セントロメアサイズを規定する分子機構の解析	平成26年度～平成27年度	深川 竜郎	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	1
A01 公募	26114716 DNA再複製防止機構からのエスケープとゲノム再編	平成26年度～平成27年度	田中 誠司	国立遺伝学研究所・微生物遺伝研究部門・助教	1
A01 公募	26114717 細菌の核様体形成を促進するrDNA領域の分子機能	平成26年度～平成27年度	仁木 宏典	国立遺伝学研究所・系統生物研究センター・教授	1
A01 公募	26114718 細胞周期を通じた染色体構造変換における非コードDNA領域の役割	平成26年度～平成27年度	広田 亨	がん研究会・実験病理部・部長	1
A01 公募	26114720 イントロン構造を介した遺伝子発現特異性の制御	平成26年度～平成27年度	谷内 一郎	理化学研究所・統合生命医科学研究センター・グループディレクター	1
A01 公募	26114721 全ゲノムシーケンスによる肝臓関連の新規機能性非コード領域の探索と機能解析	平成26年度～平成27年度	藤本 明洋	理化学研究所・統合生命医科学研究センター・上級研究員	1
A01 公募	26114723 染色体の核内高次構築を支配する非コード領域とそれを制御するタンパク質の解析	平成26年度～平成27年度	正井 久雄	東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・副所長	1
A01 公募	26114725 非コードDNAの相同染色体の認識と対合における役割	平成26年度～平成27年度	丁 大橋	独立行政法人情報通信研究機構・未来ICT研究所バイオICT研究室・主任研究員	1
公募研究 計 30 件					

## 1. 研究領域の目的及び概要（2ページ以内）

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、応募時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、未だ詳細な機能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左図）

### 【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。

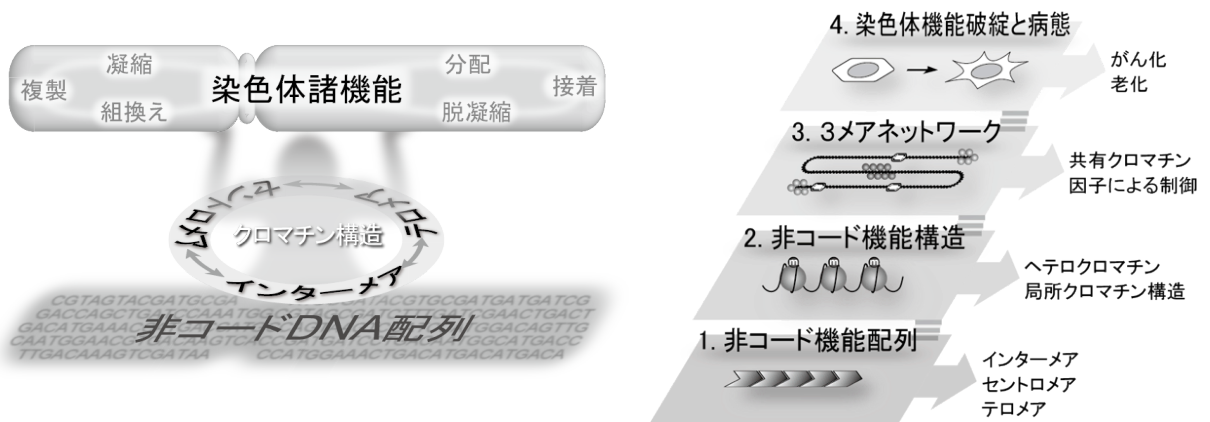


図1 非コード DNA 領域に存在する機能性配列 (3メア: セントロメア、インターメア、テロメア) がネットワークを形成し染色体の機能を支えている (左)。本領域内のチームで取り組む4つの研究階層 (右)。

## 2. 研究領域の設定目的の達成度（3ページ以内）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、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の達成度合いについて、具体的に記述してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

### 【設定目的】

これまで個別に研究されてきた染色体機能を、非コード DNA 領域の役割として4階層に分類して包括的かつシステムティックに捉え、特に染色体本体部の非コード機能性配列（インターメア）の染色体維持にける実体を解明する。さらにすでに機能が解析されているテロメア、セントロメアとインターメアとのネットワーク（3メアネットワーク）に関わる要素を抽出し、すべてを統合した「染色体制御システム」の全体像を解明する。

### 【設定目的に対する達成度】

計画は予定通りに進行し期待以上の成果が得られた。以下各チームの具体的な目的と達成内容について述べる。

#### 1) 非コード機能性配列の解析（配列チーム）:

目的：本チームでは非コード 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。

達成内容：目的に則して、非常に多くの非コード領域の新規機能の発見がなされた。印南班、中山班、小林班、太田班と共同で進めてきたプロジェクトで分裂酵母の野生株 32 種のゲノムを世界に先駆けて解読し、非コード DNA の詳細な基盤情報を入手した(Fawcett et al. 2014 PLoS One、プレスリリース)。加えて印南班を中心に分裂酵母の非コード機能性配列解析用のツールを開発し、領域ホームページにて公開している。酵母のゲノム解析に関連して正井班（公募）は染色体に散在する連続 G 配列を含む保存配列が四重鎖 DNA 構造を形成して Rif1 タンパク質を呼び込み、細胞周期に連動した複製タイミングなどの染色体機能を調節するしくみを明らかにした(Hayano et al. 2012 Genes Dev; Yamazaki et al. 2015 EMBO J; Kanoh et al. 2015 Nature SMB)。升方班（公募）も複製起点付近のテロメア様配列に Taz1 タンパク質が結合し、複製タイミングが制御されることを示した(Tazumi et al. 2012 Genes Dev.)。太田班はストレス遺伝子の近傍に存在する非コード領域の転写産物が、転写抑制因子と *cis* に相互作用することでその機能を阻害し、局所的な転写活性化の正のフィードバック制御を形成することを発見した (Takemata et al. 2015 NAR)。さらに不安定な非コード DNA 領域の維持機構として、菱田班は乗り越え修復酵素 DNA ポリメラーゼ  $\eta$  がピリミジンダイマー内の脱アミノ化されたシトシン残基（ウラシル残基）を乗り越える際にアデニンを挿入することで、シトシンからチミンへの変異を誘発していることを明らかにした (Haruta et al. 2012 NAR)。小林班、中山班は巨大非コード DNA 領域であるリボソーム RNA 遺伝子の安定性にかかわる変異株 708 株を同定しデータベース化して公開した (Saka et al. 2016 NAR ; Kawaguchi et al. 論文準備中)。加納班はサブテロメア領域を取り除いた酵母を作製しそこがヘテロクロマチンによる遺伝子発現抑制の buffer zone として機能していることを発見した (論文準備中)。丁班（公募）は減数分裂相同組換えを促進する非コード RNA 分子とそれに結合するタンパク質を同定した (Ding et al. 2012 Science)。一方動物細胞を用いた研究では、高田班は非コード DNA 領域の脆弱性に着目し、ニワトリ B 細胞 DT40 株の免疫グロブリン重鎖遺伝子に修復酵素 FANCF ヘリケース非存在化でゲノム欠失が頻発することを発見し、印南班と共同で、この現象が非コード DNA 領域で形成される G4 構造の解裂不全によることを示唆する所見を得た (Kitao et al. 2011 Gene Cells)。中山班と舛本班は共同でセントロメア形成に関与する非コード反復配列 (CENP-B box) が新世界ザルにおいても存在し、しかも機能していることを示した (Suntronpong et al. 2016 Biol Lett; Kugou et al. 2016 Scientific Rep)。梶川班は脊椎動物非コード DNA 領域の主要構成要素であるレトロトランスポゾンの新規転移誘導系をゼブラフィッシュで構築し、レトロトランスポゾンが転移直後は活発に転写され、その後ヘテロクロマチン化されることを発見した (論文準備中)。中山班須賀は梶川班と共同でヒトゲノムのレトロトランスポゾンである SINE の主要な構成配列 (Alu) を用いて *in vitro* でのヌクレオソーム形成に成功した (論文準備中)。

非コード配列の情報解析でも成果をあげた。印南班は集団内変異に関する基礎理論の構築 (Teshima & Innan 2012 Genetics, Ezawa & Innan 2013 Genetics, Heredity)、およびデータ解析用のツールの開発 (Sasaki et al Mol. Biol. Evol. 2013) を行った。また、ヒト、イネ、パン酵母、分裂酵母、黄色ブドウ球菌などのゲノムワイド進化解析を行い、ゲノム中で進化的に重要な働きをした領域を特定した (Fawcett & Innan 2013 Trends Genet, Fawcett et al 2013 PLoS One, Abe et al 2012 Nat. Biotech., Asano et al 2011 PNAS, Sugino & Innan 2012 Mol. Biol. Evol., Takuno et al 2012 Mol. Biol. Evol.)。藤本班（公募）はがん細胞の非コード領域を網羅的に解析し、変異と染色体機能との相関を見出した (Fujimoto et al 2016 Nature Genet)。

#### 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）:

目的：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。

達成内容: 非コード DNA 領域に特徴的なヘテロクロマチン構造が実はその構造を維持するためにダイナミックに変化しているという新しい「染色体像」が見えてきた。中山班は、分裂酵母の新規因子 *Ers1* と *Dsh1* が、それぞれ RNA サイレンシング経路に関わる因子のリクルートと小分子 RNA の産生過程に関わり、ヘテロクロマチン構造形成に重要なはたらきをすることを明らかにした (Hayashi, et al. 2012 PNAS; Kawakami et al. 2012 Genes Dev.)。またヘテロクロマチン構造変化の分子基盤となる研究としては、中山班の有吉はヘテロクロマチン構造形成の中心因子 *HP1α* のヒストンへの結合制御機構を、NMR 法を用いて明らかにし、さらにセントロメア形成と維持に関わる *Mis18* 複合体の結晶構造を決定した (論文準備中)。中山班の須賀は、マウス *HP1α* を *H3 K9* のメチル化ヒストンが存在しない出芽酵母に発現することで、*HP1α* の Hinge 領域の生理機能およびメチル化に依存しない *HP1* の領域を同定した (論文準備中)。また *H4* ヒストンのテール領域に存在する 4 種のリジン残基をアセチル化したヌクレオソームの結晶構造と生化学解析を行い、そのテール領域とヌクレオソームの相互作用領域を明らかにするとともに *H4* テール領域を機能的に区分けできることを提唱した (Wakamori et al. 2015 Sci Rep)。さらにヘテロクロマチン構造変化を捉える実験手法の開発にもブレークスルーがあった。太田班の加藤は非コード DNA 領域に関わるタンパク質の機能解明に必要な ChIP-seq 法の改良を行い少ないサンプル量で偽陽性を減らす手法を開発した (論文準備中)。

非コード DNA 配列のクロマチン構造の変化が様々な生理機能の制御に働いている実態が判明した。小林班はヒストンアセチル化酵素 *Rtt109* がリボソーム RNA 遺伝子の非コード領域に作用し DNA の修復に働いていることを発見した (Ide et al. 2012 PLoS Genet)。さらに修復に関しては、菱田班が酵母 *Srs2* ヘリカーゼと *Mus81-Mms4* が相同染色体間で生じる組換え中間体の解消に必須の役割を果たしていること (Keyamura et al. 2016 PLoS Genet) 及び、中山班の有吉と共同で DNA 複製ストレスに対して耐性を示す新規のヒストン *H3* 及び *H4* 変異体を同定した (論文準備中)。太田班は、クロマチン構造変化をもたらす *Mde2*、染色体接着因子 *コヒーシン Rec8*、ヒストン *H3K4* のメチル化に関わる *Prdm9* が、減数分裂期組換えホットスポット活性を調節することを発見した (Miyoshi et al. 2012 Mol. Cell ; Bioarchitecture 2013; Ito et al. 2014 Genes to Cells ; Yamada et al. 2013 NAR; Kono et al. 2014 DNA Res.)。高田班は、ファンconi貧血蛋白質 *FANCD2* によるヒストンシャペロン活性が、DNA 修復とクロマチン制御において重要な役割を果たすことを見出した (Sato et al. 2012 EMBO J)。舩本班は、セントロメア反復 DNA 結合タンパクである *CENP-B* がセントロメア機能構造形成を決定する *CENP-A* クロマチンの反復 DNA 上での安定維持に関わることを発見した (Fujita, Otake et al, 2015, NAR)。加納班は、分裂酵母のテロメア結合タンパク質 *Rap1* が M 期特異的に *Cdc2* によってリン酸化修飾を受けることにより、テロメアが一時的に核膜から解離すること、それによって M 期の正確な染色体分配が保障されていることを発見した (Fujita et al. 2012 Curr. Biol.)。また、テロメア結合タンパク質複合体の形成メカニズムと、複合体形成の細胞内機能を明らかにした (Fujita et al. 2012 PLoS ONE)。

驚きの新発見としては、次の 2 点がある。中山班の古賀は、夜行性へ移行した哺乳類で、ヘテロクロマチンが視細胞の中で微小レンズを形成する主要および副次的な役割を果たすヘテロクロマチンを特定した (論文準備中)。高田班、印南班と共同で、複製ストレス下における *FANCD2* のゲノムワイドな分布を検索し、染色体脆弱部位に相当する巨大遺伝子の中央部分イントロンに集中していること、それが転写依存的な R-loop 形成に続いて起こる現象であることを見出した (共同研究中)。

またバクテリアの研究でも成果が得られた。菱田班は仁木班 (公募) と共同で大腸菌の *SMC* ファミリータンパク質 *RecN* が *RecA* 依存的に DNA 二本鎖切断部位にリクルートされ、組換え反応の促進に関与していることを解明した (Keyamura et al. 2013 JBC)。

### 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) :

目的: 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。

達成内容: 3 メアの連係に関わる因子が同定され非コード DNA による染色体制御の全体像が明らかになった。加納班は升方班 (公募)、太田班との共同研究により、セントロメアタンパク質 *Sgo2* が間期にサブテロメアに局在し、特殊なクロマチン高次構造を形成することでサブテロメア遺伝子群の発現制御やサブテロメア領域の DNA 複製タイミングを決定していることを発見した (Tashiro et al. 2016 Nature Commun.)。またサブテロメア、テロメアが共に無い株では染色体融合が起こり、余分なセントロメアがヘテロクロマチン化して不活化していることを発見した (論文準備中)。小林班はテロメア及びヘテロクロマチン領域で遺伝子抑制に働くヒストン脱アセチル化酵素 *Sir2* がリボソーム RNA 遺伝子の非コードプロモーターにも作用しその安定性に寄与していることを総説にまとめて発表した (Kobayashi 2011 CMLS, Faculty 1000 "Recommended paper")。さらに 3 メアにとどまらず染色体全体に分布しその制御に関わる因子も同定された。高田班は、ストレス下の染色体維持に機能するキー因子の一つである *FANCD2* に会合する分子を探索し、あらたに DNA 切断末端の処理に働く重要分子 *CtIP* を発見した (Unno et al. 2014 Cell Reports)。中山班は、分裂酵母の RNA サイレンシング経路で働く *Chp1* が、ヒ

ストンのメチル化修飾と非コード RNA の両方を結びつけ、3 メアのヘテロクロマチン構造形成の確立を制御する因子であることを明らかにした (Ishida et al. 2012, Mol Cell)。また、ヒストンメチル化酵素 Ctr4 を含む複合体の解析から、3 メアのヘテロクロマチン構造形成に関わるヒストンのメチル化とユビキチン化の共役関係を明らかにした (論文投稿中)。さらに舛本班は、人工染色体を用いた「作って調べる」手法により、セントロメアタンパク質の CENP-C と CENP-I が CENP-A クロマチンのエピジェネティックな集合とキネトコア機能形成の両反応に働くことを明らかにした (Shono et al, 2015 J Cell Sci)。また、ヒストンアセチル化酵素 HAT は、セントロメア反復 DNA へのヘテロクロマチンの侵入をブロックして CENP-A クロマチンの集合を促進することを明らかにした (Ohzeki et al. 2012, EMBOJ: 2015 Chromosome Res)。更に、上記反応では Mis18 複合体の下流でヒストンアセチル化酵素の KAT7 が呼び込まれ、ヒストン交換反応とカップルして HJURP による CENP-A クロマチンの集合が促進されることを示した (Ohzeki et al 2016 Dev Cell, in press)。

#### 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) :

目的: 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。加えて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。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。達成内容: 予想通り 3 メアネットワークは、染色体維持を介して細胞機能に必須な役割を果たしていることが確認できた。小林班はリボソーム RNA 遺伝子間に存在する非コードプロモーターが rDNA の安定性の維持を介して細胞の分裂寿命を制御していることを発見した。またその制御因子とした動物細胞でも老化抑制因子として知られるサーチュイン (Sir2) が関わっていることを解明した (Saka et al. 2013 Curr Biol, Faculty1000 “Must read paper”)。高田班は、非コード DNA 領域の安定性に関わりファンコニ貧血の原因となる FANCD2 の機能に関して、ユビキチン化を引き起こす上流キナーゼ ATR の役割 (Shigechi et al. 2012 Can Res)、ATR 活性化におよぼすファンコニ貧血経路の役割 (Tomida et al. 2012 NAR)、骨髄幹細胞における内因性 DNA 損傷におよぼすアルデヒド分解酵素 ALDH2 の役割 (Hira et al. 2013 Blood)、新規ファンコニ貧血遺伝子 FANCT/UBE2T の同定 (Hira et al. 2015 Am J Hum Genetics) など、一連の発見をした。また、太田班は非コード DNA 領域の重要性を探るため耐熱性制限酵素を細胞内で発現し大規模なゲノム再編成を酵母、シロイヌナズナ、イネなどで引き起こすことに成功し、これにより多様な表現型が生じることを示した (特許出願中)。さらにその再編成を次世代シーケンサーで解析し、DNA 切断を契機に突然変異が高頻度で生じること、また非コード DNA 領域の転移因子や反復性配列がゲノム進化に促進的に働く証拠を得た。

進化と非コード DNA 領域の関係においては、高田班と太田班はファンコニ貧血責任因子が、染色体脆弱部位が多く見られる巨大遺伝子の中央部の非コード領域 (イントロン) に集積していることを発見し、それらが進化を加速した可能性を指摘した。さらに「作って調べる」手法として舛本班は、非コード領域を含まない cDNA のゲノムへの挿入は多くの場合不活性化して発現しないが、人工染色体へ挿入した非コード領域を含む巨大ゲノム遺伝子はマウス個体で 8 世代を経ても組織特異的な発現様式を維持し続けることを明らかにした (Hasegawa et al. 2015 Chromosoma)。この結果は非コード領域の染色体維持における重要性を示している。

#### 【研究対象と達成度】

応募時に研究領域として設定した研究対象は「異なる分野の研究者が連携して新しい分野の構築をめざす」である。非コード DNA 領域の機能及び 3 メアネットワークという包括的な新概念を研究するには、従来の個別要素の研究だけでは不十分であり、「連携」が必須と考え本研究対象を選択した。

達成内容: 以下に述べるように期待以上の成果をあげることができた。

「連携の成果」としては、代表例を後述 (p.20) するように計 46 件の共同研究を行い、すでに 13 本の共著論文を発表し、現在 11 本が準備中である。今後最低 2 年間は追跡調査し、領域ホームページに成果を順次アップしていく。また「新しい分野の構築」に関しては、リピート配列の増幅がヨザルの夜行性を可能にしたことから判るように、非コード領域はジャンク「不要なもの」ではなく、その可塑性が進化に貢献し、また将来も一定の方向性をもって生物の変化を促進しうることを発見した。これは「生物の適応能力」の可能性を研究する重要な新分野になりうる。一方でこの柔軟に変わりやすい性質が「コード領域を守る」働きがあるなど、非コード領域の新しい「役割」を見出すこともできた。加えて修飾によって常に移動している「ヒストンの交換反応」の実態、「共通因子」による染色体制御の全体像の解明、非コード領域の特定領域の安定性が「細胞老化」や「がん化」に引き起こすなど、新分野につながる重要な研究成果を上げることができた。

それぞれが今後ますます重要になってくる研究課題であり、継続して支援することが切に望まれる。

### 3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ以内）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

総じて順調に研究が行われたため、当初計画から大きな変更はなかった。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や結合タンパク質の機能を探る計画であった。前半で、予想以上に多くの配列や因子が同定されたため、当初の計画よりもさらにシステムティックに解析を行う必要が生じた。この点に対しては、後述する改善策で対応した。また期間前半の成果から、非コード DNA 領域の進化における役割の重要性が示唆された。そのため、京大霊長研の古賀氏を分担者として追加し、非コード反復配列を介した新機能獲得の事例として、ヨザル視細胞における反復性配列の研究を始めた。以上のような対応により、当領域の研究の幅が予想以上に広がり、新たな共同研究も順調に進展した。

各チームの問題点とそれに対して行った具体的な対策は以下の通りである。

#### 配列解析チーム

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**を中心に情報解析を行った。得られたデータは予想以上に膨大となったが、体制を強化して対応した。具体的には、まず平成25年8月に領域主催で国際シンポジウム（葉山）を行い、海外の有力研究者と意見を交換して解決策を練った。莫大な配列データをクラウド・サーバーに共有保管し、効率的に解析する体制を構築した。また、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をアピールする意味をこめて、領域横断的な国内ワークショップを企画した。これが功を奏し、期間後半でデータ解析に長けた公募班員の確保に成功した。さらに印南班、小林班での配列解析の増員もおこない、より強固な連携体制を整えた。その結果、配列解析の共同研究モデルケースとして行った分裂酵母野生株 32 株の配列決定・解析に成功した（2014 年プレスリリース）。

#### 構造チーム

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解明に向けて解析をおこなった。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で ChIP-seq 法等をおこない、ヒストンの修飾状態やクロマチン構造との相関、さらに分子構造の解明を目指した。

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た。一方で、分子の構造解析において、**中山班**の有吉班員に負担が集中する結果となった。これを解決するために、領域横断的な国内ワークショップを通じ、構造解析に精通した班員を数名新たに追加した。

#### ネットワークチーム

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、ヒストン修飾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た。これらの因子はネットワークを構築する実体である可能性が高い。具体的にはヒストンのアセチル化、脱アセチル化、などのタンパク質である。問題点は他のヘテロクロマチン、複製ストレスと損傷修復、テロメアとセントロメアの連携の実態に如何に迫るかであった。そこで他の領域でのタンパク質複合体解析などを行った結果、興味深いことに共通の因子が幾つか同定された。例えば、セントロメアのヒストンのアセチル化因子 **KAT7** は複製ストレスと損傷修復反応でも働いている。その交換反応はヒストン修飾を軸に普遍的に染色体制御に関わっているという新しい概念の創出に結びついた。

#### 病態解析チーム

染色体制御に関わる多くの因子が同定されてきており、それらのノックアウト、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った。解決策として限定的な siRNA スクリーニングにより因子の絞り込みを行った。さらに CRISPR/CAS9 など新しいゲノム編集技術の導入により効率化を図った。

#### 4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況（2ページ以内）

審査結果の所見及び中間評価において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

##### <審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況>

所見において指摘を受けた事項は特にありません。

##### <中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況>

中間評価（A） 研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの進展が認められる

指摘点1：次世代シーケンサーから算出される膨大なデータから重要な情報を抽出する画期的なアイデアや4つの研究階層を統合した新たなパラダイムの構築など、新学術領域として期待される研究成果が得られることを望む。今後は、領域研究における重要性が高い生物情報学を強化することが必要である。

対応1：新たなパラダイムの構築としては、非コード領域は構造、あるいは配列の変化が起こり易い領域でありその柔軟性がコード領域つまり遺伝子を守り、細胞の機能を維持し、さらには環境に対する適応能力を高めていることが判明した。生物情報学を強化に関しては、公募班で新たな若手人材（藤本、高橋）を導入し、また印南班を中心に3つの遺伝子解析ツール（下）を開発した。

(Polymorphism) <http://charles.biology.tohoku.ac.jp/pomber/polymorphism/>

(Evenness) <http://charles.biology.tohoku.ac.jp/pomber/evenness/>

(Distribution) <http://charles.biology.tohoku.ac.jp/pomber/distribution/>

さらに数理・情報学を専門とする研究者（東京大学生産研平田祥人特任准教授）との共同研究を進めた。藤本班、高橋班ともに期待以上の活躍をみせ、2年間で17本の査読論文（内8本が融合研究）を発表した。

指摘点2、効率的な連携研究体制が実現しているが、異分野融合の観点からは学際性をより高くする工夫が望まれる。

対応2：後半より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にご協力いただき、新しいアルゴリズムによる効率のよりDNA配列の解析法を導入した（特許出願中、論文投稿中）。さらに計画班分担者に進化学を専門とする京都大学子古賀章彦教授に加わっていただき非コード配列が進化に与える影響をより詳しく解析する体制を強化した。

指摘点3、本研究領域が提唱する「インターメア」の定義をより明確にすること、また、インターメアに関する新規発見や新しい概念の抽出が今後の重要な課題と考えられる。

対応3：「インターメア」の定義は、テロメア、セントロメア以外の非コード機能性配列である。その定義をより明確にし、さらに普及させるために領域内での大規模な共同研究により分裂酵母野生株32株のゲノム解析を行い、論文を発表した（2014 PLoS One、プレスリリース）。そこで初めて公式に「intermere」という専門用語を定義した。さらに国内向けに化学同人出版より「ゲノムを司るインターメアの機能～非コードDNAの新たな展開～」という本領域の成果をまとめた総説集を出版し、新用語の普及に努めた。

**5. 主な研究成果(発明及び特許を含む)[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する](3ページ以内)** 本研究課題(公募研究を含む)により得られた研究成果(発明及び特許を含む)について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・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。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

#### <計画研究>

##### 小林班

- 1) 領域内共同研究により、巨大非コードDNA領域であるrDNAの安定性に関わる変異株を出芽酵母遺伝子欠損ライブラリーより検索し、708変異株を同定した。これは全遺伝子数の約10%に相当することから、これまで考えられていた以上に多くの遺伝子がゲノムの安定性に関わっていることが判明した(Saka et al. 2016 NAR)。
- 2) 動物細胞のrDNAの遺伝子間領域に存在するインターメアDNA複製阻害配列及びそこに結合するタンパク質を同定した。さらにその結合には転写活性とカップルしたDNAのメチル化が関与していることを解明した(Akamatsu & Kobayashi 2015 MCB)
- 3) rDNA間に存在する非コードプロモーターがrDNAの安定性の維持を介して細胞の分裂寿命を制御していることを発見した。またその制御因子とした動物細胞でも老化抑制因子として知られるサーチュインが関わっていることを解明した(Saka et al. 2013 Curr Biol, Faculty1000 “Must read paper”に選出される)。
- 4) 出芽酵母の遺伝子欠損ライブラリーの解析によりヒストンアセチル化酵素Rtt109がリボソームRNA遺伝子の非コード領域に作用しDNAの修復に働いていることを発見した(Ide et al., 2012 PloS Genet)。
- 5) テロメア及びヘテロクロマチンで遺伝子抑制に働くヒストン脱アセチル化酵素Sir2が、リボソームRNA遺伝子の非コードプロモーターにも作用しその安定性に寄与していることを論文にまとめた(Kobayashi, 2011 CMLS, Faculty1000 “Recommended paper”に選出される)

##### 太田班(分担:加藤)

- 1) ヒトのコレ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(Deardorf, et al. 2012 Nature)、また同症候群に類似したCHOPS症候群が転写伸長に関わるAFF4の機能獲得型変異により異常な遺伝子発現をもたらしていることを見つけた(Izumi et al. 2015 Nature Genet.)。
- 2) 抗体偽遺伝子を元に行われる遺伝子再編成を人為的に活性化する技術を用いて、神経成長を制御する生理活性脂質の中和抗体を作製し、その発見・機能同定に寄与した(Guy et al., 2015 Science)。
- 3) 長大遺伝子間領域で見られる非コードの転写が、プロモーター領域のクロマチン抑制因子を阻害することで、下流の遺伝子発現を促進することを見いだした(Takemata et al. 2016 NAR; Asada et al. 2015 MCB)。同様な非コードRNA転写がストレス遺伝子で見られることを発見した(Oda et al. 2015 Genes Cell)。
- 4) 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同定したほか(Yamada et al., NAR 2013)、動物細胞の組換えホットスポット活性化を担うヒストン修飾酵素Prdm9の野生マウスにおける多型解析から、Prdm9自身がイントロン部のホットスポットで高速進化していることを見いだした(Kono et al. 2014 DNA Res.)。
- 5) 領域内共同研究により、ChIP chipや質量分析を駆使し、分裂酵母の組換え、チェックポイントと染色体構造変化の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. 2012 Mol Cell)。酵母において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た(Ito et al. 2014 Genes Cell)。

##### 印南班

- 1) 領域内共同研究により、分裂酵母の野生株32株の全ゲノム塩基配列を決定した。種内変異の分布を解析することによって、機能的な重要性などを指数化することが出来た。また、インターメアの候補となる機能的制約のつよい特定の非コード配列も探索した(Fawcett et al. 2014 PLoS One)。
- 2) 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; Ezawa and Innan 2013 Heredity)。また、コピー数変異の種間解析により、そのホットスポットの存在と、そこにおける遺伝変換の役割りを明らかにした(Fawcett and Innan 2013 Trends Genet.)。
- 3) 次世代シーケンサーの配列データから、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アルゴリズムを開発した(Sasaki, Sugino and Innan 2013 Mol. Biol. Evol.)。
- 4) 領域内共同研究により、バクテリアの相同組換えのパターンをゲノムワイドに解析し、その頻度はいままでも考えられていた以上に高いことが分かった(Takuno et al. 2012 Mol. Biol. Evol.)。バクテリアが進化する際に組換えに大きく頼っているのではないかと考え、実験進化によってその実証を試みている。
- 5) 突然変異系統において、効果的に表現型に影響を与える高インパクトの変異サイトを同定する方法を開発しイネの突然変異系統で、その有効性を実証した。また、いくつかの機能突然変異を迅速に同定することに成功した(Abe et al. 2012 Nat. Biotech; Takuno et al. 2012 PLoS One; Takagi et al. 2013 Plant J.)。

##### 中山班(分担:有吉、須賀、古賀、中川)

- 1) ヒストンメチル化酵素Clr4を含むCLRRC複合体の生化学的な解析から、CLRRCがヒストンH3をユビキチン化する活性を持ち、このユビキチン化がClr4によるメチル化活性を促進することを明らかにした(Oya et al. 論文投稿中)。
- 2) 領域内共同研究により、HP1のリン酸化修飾による機能制御について解析を進め、N末端のリン酸化がH3K9メチル化ヌクレオソームへの結合特異性を高めること、また、N末端のテール領域の構造安定化に寄与していることを明らかにした(Nishibuchi, et al. 2014 NAR; Shimajo et al. 2016 Sci Rep.)
- 3) 領域内共同研究により、ヒト科以外の霊長類(広鼻猿下目)にも機能するCENP-B boxがあることを証明した。さらにヒトのセントロメアを形成するαサテライトDNAの高次構造の進化的起源が狭鼻猿下目と広鼻猿下目の分岐以前であることを示した(Suntronpong, et al. 2016 Biol Lett; Sujjwattananat et al. 2015 Sci Rep.)。
- 4) H4ヒストンのテール領域に存在する4つのリジン残基をアセチル化したヌクレオソームの結晶構造と生化学解析を行い、そのテール領域とヌクレオソームの相互作用領域を明らかにした。また、H4テール領域を機能的に区分けできることを提唱した(Wakamori et al. 2015 Sci Rep)
- 5) 遺伝学的なスクリーニングによって単離された分裂酵母の新規因子Ers1とDsh1が、それぞれRNAサイレンシング因子のリクルートと、小分子RNAの産生過程に関わり、ヘテロクロマチン構造形成に重要な働きをすることを明らかにした(Hayashi, et al. 2012, PNAS; Kawakami et al., 2012, Genes Dev.)。
- 6) 分裂酵母のRNAサイレンシング経路で働くChp1が、ヒストンのメチル化修飾と非コードRNAの両方を結びつけ、ヘテロクロマチン構造形成の確立を制御する因子であることを明らかにした(Ishida et al. 2012 Mol Cell)。

- 7) セントロメアの形成と維持に関わる Mis18 複合体の電子顕微鏡による単粒子解析を行い、高次のヘテロ複合体を形成することを示した。もう一つの複合体形成因子である Mis18BP1 の進化的に保存された新規構造モチーフの結晶構造を決定し、Mis18 複合体の会合機構の一端を明らかにした。

#### 梶川班

- 1) レトロトランスポゾンの新規転移をゼブラフィッシュ生体内で人工的に誘導できる実験系を開発した。本実験系は、レトロトランスポゾンの生体内での転移機構の解析、および、レトロトランスポゾンが宿主ゲノムに及ぼす影響の解析に有用である。
- 2) 新規転移したレトロトランスポゾンのプロモーター領域は、DNAのメチル化修飾を受けないことを発見した。またこの低メチル化状態がレトロトランスポゾン近傍の宿主ゲノムDNAにも広がることを発見した。
- 3) 生体内で新規転移したレトロトランスポゾンは、その転写が抑制されていないことを発見した。内生の変異原であるレトロトランスポゾンは、その転写および転移が高度に抑制されていると考えられていたが、本発見はこれまでの考えを覆す成果である。
- 4) 新規転移したレトロトランスポゾンDNAの低メチル化状態および転写の活性化は、ゼブラフィッシュの世代を超えて引き継がれることを発見した。これは、レトロトランスポゾンの転移活性がエピジェネティックな機構により調節され且つ世代を超えて伝達されることを示唆している。

#### 菱田班

- 1) 非コードDNA反復配列の安定性維持に関与する出芽酵母 Srs2 の解析から、ヘリカーゼ活性を失った Srs2K41A 変異体は、Srs2 が関わる SDSA 経路に加えて Mus81-Mms4 エンドヌクレアーゼ経路を阻害することにより、相同染色体間の組換え中間体の蓄積や染色体再編・喪失を伴った細胞死を引き起こすことを明らかにした (Keyamura et al., 2016, PLoS Genet.)。
- 2) 出芽酵母の非必須遺伝子破壊株 (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 89 変異株を同定した。また Srs2 ヘリカーゼと Mus81-Mms4 エンドヌクレアーゼは相同染色体間の組換え中間体の解消において共に必須の役割を果たしていることを明らかにした (論文準備中)。
- 3) 領域内共同研究により、DNA損傷トランス経路を欠損した株において、ヒストンH3又はH4変異を導入した二重変異株を多数作製し、DNA損傷に対して高感受性を示す51のヒストン変異と、rad18変異のDNA損傷感受性を抑圧する8つのヒストンH3及びH4変異を同定した (論文投稿準備中)。
- 4) 領域内共同研究により、染色体構造維持タンパク質 (SMC) 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 (Keyamura et al. 2013 JBC)。
- 5) 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実験系を用いて、突然変異を抑える働きをしている DNA ポリメラーゼ η がピリミジンダイマー内のシトシンの脱アミノ化によって生じるウラシルを介した突然変異の誘発に関与していることを明らかにした (Haruta et al. Nucleic Acids Res. 2012)。

#### 舛本班

- 1) Mis18 複合体の下流で、ヒストンアセチル化酵素の KAT7 が呼び込まれ、H3K14アセチル化がヒストン交換反応を促進することで、HJURPによるCENP-A クロマチンの集合が起ることを示した (Ohzeki et al. 2016 Developmental Cell)。
- 2) 人工染色体を用いた「作って調べる」手法により、セントロメアタンパク質のCENP-CとCENP-I がCENP-A クロマチンのエピジェネティックな集合とキネトコア機能形成の両反応に要として働くことを明らかにした (Shono et al, 2015 J Cell Sci)。
- 3) セントロメアの反復 DNA 結合タンパクである CENP-B が、セントロメア構造形成を決定する CENP-A クロマチンの安定維持に関することを証明した (Fujita, Otake et al. 2015 NAR)。
- 4) cDNA のゲノムへの挿入は多くの場合不活性化を免れないが、人工染色体へ挿入した巨大ゲノム遺伝子はマウス個体で8世代を経て組織特異的な発現様式を維持し続けることを示し、ゲノム非コード領域のインターメアの重要性を明らかにした。(Hasegawa et al. 2015 Chromosoma)。
- 5) ヒストンアセチル化酵素HATは、セントロメア反復DNAへのヘテロクロマチンの侵入をブロックしてCENP-A クロマチンの集合を促進することを明らかにした (Ohzeki et al. 2012 EMBOJ; Ohzeki et al 2015 Chromosome Res)

#### 加納班

- 1) 領域内共同研究で、インターメアの一つであるサブテロメア領域の機能を解析し、セントロメアで機能するタンパク質Sgo2が間期にサブテロメア特異的高次クロマチン構造形成を誘導し、遺伝子発現レベルやDNA複製タイミングの維持に寄与していることを明らかにした (Tashiro et al. Nature Commun 2016)。
- 2) 分裂酵母のテロメアDNA結合タンパク質Taz1の機能ドメイン解析を行った結果、今回新規に同定したhelicalドメインやdimerizationドメインがTaz1のテロメアDNA結合能やテロメアDNA長制御機能に必要であることがわかった (Deng et al. Cell Res 2015)。
- 3) テロメア結合タンパク質複合体形成メカニズムを探るため、その中心であるRap1タンパク質における他のタンパク質との相互作用ドメインの同定、各ドメインの生理学的機能 (テロメアDNA長制御、テロメアヘテロクロマチン構造形成、減数分裂進行) を明らかにした (Fujita et al. PLoS ONE 2012)。
- 4) 核膜が崩壊しない細胞分裂におけるテロメアの機能を探ったところ、分裂酵母のRap1タンパク質は細胞分裂期にCdc2によってリン酸化され、核膜タンパク質との相互作用が阻害されてテロメアが一時的に核膜から解離し、正常な染色体分離が保障されていることを明らかにした (Fujita et al. Curr Biol 2012)。

#### 高田班

- 1) 領域内共同研究により、遺伝病ファンconi貧血の原因遺伝子FANCD2が複製ストレス下で染色体脆弱部位である巨大遺伝子の中央部分のイントロン領域に結合することが明らかとなった。またこの結合には、転写とそれに伴うR-loop形成を必要としていた (論文準備中)。
- 2) 国際共同研究で、新規ファンconi貧血遺伝子としてリングフィンガー型ユビキチンリガーゼであるRFWD3を同定した。さらにRFWD3のターゲットとしてRPAとRAD51を同定し、そのユビキチン化が相同組換え後期における分解を引き起こし、シナプス形成後のDNA修復合成が進むことを明らかにした (論文準備中)。
- 3) 日本人患者の解析によってファンconi貧血の新規原因遺伝子としてFANCTを同定した (Hira et al. 2015 Am J Hum Genet)。
- 4) 日本人患者においてアルデヒド分解酵素ALDH2の遺伝子型を調べ、活性を失ったバリエーション型遺伝子をホモに持つ患者が極度に重症で生後すぐにMDS発症すること、ヘテロ型でも骨髄不全の進行が促進されていることを明らかにした (Hira et al. 2013 Blood)。
- 5) ファンconi貧血のキー分子FANCD2の会合分子を探索し、DNA二重鎖切断末端をプロセスするヌクレアーゼであるCtIPを同定した。CtIPはFANCD2によってその局在を調節されていることがわかった (Unno et al. 2014 Cell Rep)。



## <公募研究>

**遠藤班**：非コード DNA の機能や進化を明らかにするため、機能的配列の進化的変化の解明を目指した各種生物のゲノム配列をもとに保存性および生物種間の量的変化の解析を行い、遺伝子オントロジーレベルでのプロファイリングを得た。

**田中耕三班**：非コード DNA 領域と紡錘体微小管との相互作用による染色体の空間的制御について、モーター分子 CENP-E と Kid が共同して染色体の紡錘体中央への整列にはたらくことを明らかにした (Iemura and Tanaka. 2015 Nat Commun)。

**石黒班**：領域内共同研究により、コヒーシ複合体のマウス減数分裂における相同染色体のペアリングへの関与について明らかにした。さらに、減数分裂における新規の動原体因子によるセントロメア接着機構やテロメアを介する染色体運動の機構について明らかにした (Ishiguro et al. 2014, Genes Dev)。

**幸田班**：マウス初期胚の遺伝子発現プロファイルを、系統間での違い、顕微受精の影響をあわせて解析し、zygotic activation の起こる 2 細胞期ですでに発現に影響を受ける遺伝子及び反復配列を同定することに成功した (Kohda 2013 J Hum Genet)。

**筒井班**：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。このループ構造はそれぞれの接合型に特異的な構造であり、Swi2-Swi5-Swi6タンパク質の接合型領域への局在とも密接に関係していることなどを明らかにした。さらに接合型変換に関わる因子を網羅的に同定した。

**深尾班**：Alu 配列による相同組み換えによる遺伝性疾患の発症について、各エクソンのコピー数を解析する方法をケトン体代謝異常症について確立した (Fukao et al. 2013 Mol Genet Metab; Aoyama et al. 2015 Int J Mol Med)。また Alu 配列挿入によるスプライシング異常について ACAT 1 遺伝子イントロン 9 での解析を行った。

**廣田耕志班**：巨大なゲノム複製を担う複製ポリメラーゼ  $\delta$  は正確な複製の代償に損傷 DNA を乗り越えて複製できないと考えられてきた。本研究でポリメラーゼ  $\delta$  が細胞内で乗り越え反応を行い、ポリメラーゼ  $\eta$  や  $\zeta$  経路を補完していることを明らかにした (Hirota et al. 2015 NAR)。

**小串班**：卵母細胞核小体は非コード DNA 領域であるセントロメア近傍のヘテロクロマチン構築に必須であること、また質量分析によってその主成分と同定されたヌクレオプラスミンのみで卵母細胞核小体の構造と機能を再構築できることを明らかにした (Ogushi et al., PNAS, 投稿中)

**升方班**：領域内共同研究により、分裂酵母染色体複製制御にテロメア配列とテロメア結合タンパク質群が深く関与することを見いだし (Tazumi et al. 2012, Gene Dev)、さらにシュゴシンタンパク質が広大なサブテロメア領域の複製を制御することを見いだした (Tashiro et al. 2016, Nat Commun)。

**仁木班**：バクテリアのコンデシンは、リボソーム遺伝子に特異的に結合し染色体を凝縮させ、複製した姉妹染色体の分離に寄与する。精製した大腸菌のコンデシン MukB タンパク質の生化学的な実験から、コンデシンは 1 本鎖 DNA にトポジカルに結合することが明らかになった。

**広田亨班**：DNA の細胞周期依存的な構造変換を安定して遂げるためには、繰り返し配列の多い非コード DNA 領域の複製から分配までを滞りなく進めることが重要で、その細胞機能においては Smc5/6 複合体が中心的な役割を担うことが判明した (Gallego-Paez et al. 2014 Mol Biol Cell)。

**前川班**：転写因子 ATF7 は Ku70/80 及びテロメラーゼと複合体を形成して、テロメアの長さを調節する重要な因子であることを発見した。次に、スロレスによって ATF7 がリン酸化されるとこの複合体が解離するため、テロメアが短く成るメカニズムが明らかになった。 (Liu et al. 2016 FEBS Open Bio)

**伊藤班**：非コード DNA である CpG アイランドは、CXXC タンパク質をリクルートすることにより、転写制御に寄与することを明らかにした (Blackledge NP et al. 2014 Cell)。CpG アイランドの安定性における DNA 脱メチル化の意義を明らかにした (Shibutani T et al. 2014 Scientific Reports ; Ito S, and Kuraoka I. 2015 DNA Repair)。

**正井班**：領域内共同研究により、非コード領域に存在するグアニン 4 重鎖 DNA を、進化的に保存された核因子 Rif1 が認識・結合し、複製や転写を制御する染色体機能ドメインの形成を促進することを発見した (Kanoh et al. 2015 Nature SMB)。

**丁班**：相同染色体対合に非コード DNA が重要な役割を果たすことを発見した (Ding et al. 2012 Science)、その作用原理に 5 つ RNA 結合タンパク質が関連することを明らかにし、さらに領域内共同研究により、関連タンパク質の染色体結合部位を詳しく解析した。

**高橋班**：機能性非コード領域の網羅的同定法を開発し、多数の配列を同定し一部の機能について検証した (Ebina et al. 2015, NAR)。領域内共同研究により、配列規則性について予備的知見を得ている。臨床・疾患データ解析から、診断マーカーになりうる非コード領域上多型の同定にも成功した (Takahashi et al. 2015, BMC Cancer)。

**中川班**：セントロメアでは Rad51 と Rad54 が非交叉型組換えを起こすことで、Mus81 ヌクレアーゼによる同胞染色体の形成を抑制することを明らかにした (Onaka et al. 投稿中)。セントロメアでの染色体再編に機能する新規因子 Foc1 を同定した。

**藤田班**：pre-RC 因子の ChIP-Seq およびクロマチン構造を調べる FAIRE-Seq を行い、染色体 DNA 複製制御とクロマチン制御の時空間的連携の全体像を解析した (Sugimoto et al. 2015 NAR)。更に、複製制御におけるインターメアを含む非転写領域の重要性を提唱している (Sugimoto et al. 論文準備中)。

**釣本班**：領域内共同研究により、DNA ポリメラーゼ  $\epsilon$  と PCNA ローダー Ctf18-RFC 間の結合が生物種を越えて高く保存され、出芽酵母で DNA 損傷応答、染色体構造維持に重要なはたらきを持つことを明らかにした。 (Okimoto et al. 2016 Genes Cells)

**深川班**：機能が解析されている非コード DNA 領域としてセントロメアに注目して、そのサイズを規定する因子を解析した結果、HJURP タンパク質がセントロメアの巨大化に関わっていることを明らかにした (Perpelescu et al. 2015 Mol Biol Cell)。

**田中誠司班**：G1 期で DNA 複製を開始する能力を高くした酵母株では、ゲノムの安定性が低下し、サブテロメアリピート配列 Y 配列のコピー数変動が 16 番染色体においてのみ見られた (論文投稿準備中)。領域内共同研究により、Ctf18 の C 末端部がゲノム安定維持に働くことを発見した (Okimoto et al. 2016, Genes to Cells)

**谷内班**：T 細胞分化の制御において重要な CD8 遺伝子の分化段階特異的な発現制御機構において、イントロン構造がエピジェネティック制御を介して関与することを明らかにし、非コード領域の新規機能の解明に貢献した。

**藤本班**：肝臓癌の全ゲノムシークエンスを解析し、変異が蓄積している非コード領域を検出した。統計的に有意に多くの変異が蓄積しているノンコーディング RNA、プロモーター、UTR 領域が検出された (Fujimoto et al. Nat Genet, 2016)。

## <特許・産業財産権等>計 7 件、以下抜粋

- 空間的な近さの概念を用いた生体分子データの 3 次元構造の再構成方法  
平田祥人、小田有沙、太田邦史、合原一幸：出願年月日 平成28年2月10日、特願2016-023214
- HP1の機能に着目した抗がん剤のスクリーニング方法及び評価系  
広田亨、阿部 優介：出願年月日 平成28年2月26日出願番号：特願2016-035505

## 6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（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。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、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。
- 別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したもののについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください）。
- 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。

<計画研究発表論文> 主要論文のみ記載（全て査読あり）。査読論文（計画、公募）合計 361 報。

### 小林班

- ◎▲Saka, K., Takahashi, A., Sasaki, M., \*Kobayashi, T. (2016). More than 10% of yeast genes are related to genome stability and influence cellular senescence via rDNA maintenance. *Nucleic Acid Res.* 44:4211-4221.
- ▲\*Akamatsu, Y., \*Kobayashi, T. (2015). The Human PolI Transcription Terminator Complex Acts as a Replication Fork Barrier that Coordinates the Progress of Replication with rRNA Transcription Activity. *Mol. Cell. Biol.* 35: 1871-1881.
- ▲\*Kobayashi, T. (2014). Ribosomal RNA gene repeats, their stability and cellular senescence. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 90:119-129.
- ▲Saka, K., Ide, S., Ganley, A.R., \*Kobayashi, T. (2013). Cellular senescence in yeast is regulated by rDNA noncoding transcription. *Curr. Biol.* 23:1794-1798. **F1000 “Must read paper”**.
- ▲Ide, S., Saka, K., \*Kobayashi, T. (2013). Rtt109 prevents hyper-amplification of ribosomal RNA genes through histone modification in budding yeast. *PLoS Genet.* 9: e1003410.
- ▲\*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. **F1000 “Recommended paper”**.

### 太田班（加藤）

- ▲Takemata N, Oda A, Yamada T, Galipon J, Miyoshi T, Suzuki Y, Sugano S, Hoffman CS, Hirota K, \*Ohta K (2016). Local potentiation of stress-responsive genes by upstream noncoding transcription. *Nucleic Acids Res.* in press
- Izumi K, eta I., Katou Y, (22人中20番目) (2015). Germline gain-of-function mutations in AFF4 cause a developmental syndrome functionally linking the super elongation complex and cohesin. *Nature Genet.* 47:338-344.
- ▲Asada R., Takemata N., Hoffman C., Ohta K., \*Hirota K. (2015). Antagonistic controls of chromatin and mRNA start site selection by Tup family corepressors and the CCAAT-binding factor. *Mol. Cell. Biol.* 35:847-855.
- ◎▲Guy AT, Nagatsuka Y, Ooashi N, Inoue M, Nakata A, Greimel P, Inoue A, Nabetani T, Murayama A, Ohta K, Ito Y, Aoki J, \*Hirabayashi Y, \*Kamiguchi H. (2015) Glycerophospholipid regulation of modality-specific sensory axon guidance in the spinal cord. *Science* 349:974-977.
- ▲Yamada S, Ohta K, \*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.
- Deardorff MA, et al., Katou Y (43人中9番目) (2012). HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle. *Nature* 489:313-317.
- ▲Miyoshi T., Ito M., Kugou K., Yamada S., Furuichi M., Oda A., Yamada T., Hirota K., Masai M., \*Ohta K (2012). A central coupler for recombination initiation linking chromosome architecture to S-phase checkpoint. *Mol. Cell* 47: 1-12.

### 印南班

- ◎▲Fawcett, J.A., Iida, T., Takuno S., Sugino R.P., Kado T., Kugou, K., Mura, S., Kobayashi, T., Ohta, K., \*Nakayama, J.I., \*Innan, H. (2014). Population genomics of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *PLoS One* 9, e104241.
- ◎Fawcett, J.A., \*Innan, H. (2013). The role of gene conversion in preservation of rearrangement hotspots in the human genome. *Trends Genet.* 29:561-568.
- ◎Sasaki, E., Sugino, R.P., \*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.* 30:2187-2196.
- ◎Ezawa, K., \*Innan, H. (2013). Competition between the sperm of a single male can increase the evolutionary rate of haploid expressed genes. *Genetics* 194:709-719.
- ◎Sugino, R.P., \*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.

### 中山班（有吉、須賀、古賀、中川）

- ▲Suntronpong, A., #Kugou, K., Masumoto, H., Srikulnath, K., Ohshima, K., Hirai, K. and \*Koga, A. (2016). CENP-B box, a nucleotide motif involved in centromere formation, occurs in a New World monkey. *Biol Lett*, 12: 20150817, # equally contributed
- ▲Sujiwattananat, P., Thapana, W., Srikulnath, K., Hirai, Y., Hirai, H., \*Koga, A. (2015) Higher-order repeat structure in alpha satellite DNA occurs in New World monkeys and is not confined to hominoids. *Sci. Rep.* 14:10315.
- ▲Nishibuchi, G., Machida, S., Osakabe, A., Murakoshi, H., Hiragami-Hamada, K., Nakagawa, R., Fischle, W., Nishimura, Y., Kurumizaka, H., Tagami, H., Nakayama, J. (2014) N-terminal phosphorylation of HP1α increases its nucleosome-binding specificity. *Nucleic Acids Res.* 42:12498-511.



4. ▲Higo T, \*Suka N, Ehara H, Wakamori M, Sato S, Maeda H, Sekine SI, Umehara T, \*Yokoyama S. (2014). Development of a hexahistidine-3x FLAG-tandem affinity purification method for endogenous protein complexes in *Pichia pastoris*. *J. Struct. Funct. Genomics*. 4:191-199.
5. ▲Nishibuchi, G., Shibata, Y., Hayakawa, T., Hayakawa, N., Ohtani, Y., Shinmyozu, K., Tagami, H., \*Nakayama, J. (2014). Physical and functional interactions between the histone H3K4 demethylase KDM5A and the nucleosome remodeling and deacetylase (NuRD) Complex. *J. Biol. Chem.* 289:28956-70.
6. ▲Nishibuchi, G., \*Nakayama, J. (2014). Biochemical and structural properties of heterochromatin protein 1: understanding its role in chromatin assembly. *J. Biochem.* 156:11-20.
7. ▲Han, Y-W., Yokota, H., Ariyoshi, M., Tsunaka, Y., Iwasa, T., Yokokawa, R., Hiramatsu, R., Chiba, D., Ono, T. and \*Harada, Y. (2013) Characterization of SRA-methylated DNA complex dynamics related to chromatin structure regulation. *Biophysical J.* 104:255-258.
8. ▲Ishida, M., Shimojo, H., Hayashi, A., Kawaguchi, R., Ohtani, Y., Uegaki, K., Nishimura, Y., \*Nakayama, J. (2012). Intrinsic nucleic acid-binding activity of Chp1 chromodomain is required for heterochromatic gene silencing. *Mol. Cell* 47:228-41.
9. ▲Hayashi, A., Ishida, M., Kawaguchi, R., Urano, T., Murakami, Y., \*Nakayama, J. (2012). Heterochromatin protein 1 homologue Swi6 acts in concert with Ers1 to regulate RNAi-directed heterochromatin assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109:6159-64.

#### 梶川班

1. Yamaguchi, K., \*Kajikawa, M., \*Okada, N. (2015). LINE retrotransposition and host DNA repair machinery. *Mob. Genet. Elements*. 5:92-97.
2. Yamaguchi, K., \*Kajikawa, M., \*Okada, N. (2014). Integrated mechanism for the generation of the 5' junctions of LINE inserts. *Nucleic Acids Res.* 42:13269-13279.
3. \*Kajikawa, M., Yamaguchi, K., 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.
4. \*Kajikawa, M., Sugano, T., Sakurai, R., Okada, N. (2012). Low dependency of retrotransposition on the ORF1 protein of the zebrafish LINE, ZfL2-1. *Gene*. 499:41-47.
5. 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.

#### 菱田班

1. ▲Keyamura, K., Arai, K., \*Hishida, T. (2016). Srs2 and Mus81-Mms4 Prevent Accumulation of Toxic Inter-homolog Recombination Intermediates. *PLoS Genet.* in press.
2. ©Keyamura, K., Sakaguchi, C., Kubota, C., Niki, H., \*Hishida, T. (2013). RecA protein recruits structural maintenance of chromosomes (SMC)-like RecN protein to DNA double-strand breaks. *J. Biol. Chem.* 288: 29229-29237.
3. Haruta, N., Kubota, Y., \*Hishida, T. (2012) Chronic low-dose ultraviolet induced mutagenesis in nucleotide excision repair-deficient cells. *Nucleic Acids Res.* 40:8406-8415.
4. \*Masuda, Y., Suzuki, M., Kawai, H., Hishiki, A., Hashimoto, H., Masutani, T., Hishida, T., Suzuki, F., 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.

#### 舛本班

1. ▲Ohzeki, J., Shono, N., Otake, K., Martins, N.M.C., Kugou, K., Kimura, H., Nagase, T., Larionov, V., Earnshaw, W.C., \*Masumoto, H. (2016). KAT7/HBO1/MYST2 regulates CENP-A chromatin assembly by antagonizing Suv39h1-mediated centromere inactivation. *Developmental Cell* 37: 13-427.
2. ▲Shono, N., Ohzeki, J., Otake, K., Martins, N.M.C., Nagase, T., Kimura, H., Larionov, V., Earnshaw, W.C. and \*Masumoto, H. (2015). CENP-C and CENP-I are key connecting factors for kinetochore and CENP-A assembly. *J. Cell Science*, 128: 4572-4587.
3. ▲# Fujita, R., # Otake, K., Arimura, Y., Horikoshi, N., Miya, Y., Shiga, T., Osakabe, A., Tachiwana, H., Ohzeki, J., Larionov, V., \*Masumoto, H. and \*Kurumizaka, H. (2015). Stable complex formation of CENP-B with the CENP-A nucleosome. *Nucleic Acids Res.* 43: 4909-4922. # equally contributed,
4. ▲Ohzeki, J., Larionov, V., Earnshaw, W.C. and \*Masumoto, H. (2015). Genetic and epigenetic regulation of centromeres: A look at HAC formation. *Chromosome Res.* 23:87-103.
5. Ohzeki, J., Bergmann, J.H., Kouprina, N., Noskov, V., Nakano, M., Kimura, H., Earnshaw, W.C., Larionov, V. and \*Masumoto, H. (2012). Breaking the HAC Barrier: Histone H3K9 acetyl/methyl balance regulates CENP-A assembly. *EMBO J.* 31:2391-2402.

#### 加納班

1. ▲Tashiro, S., Handa, T., Matsuda, A., Ban, T., Takigawa, T., Miyasato, K., Ishii, K., Kugou, K., Ohta, K., Hiraoka, Y., Masukata, H., \*Kano, J. (2016). Shugoshin forms a specialized chromatin domain at subtelomeres that regulate transcription and replication timing. *Nature Commun.* 7:10393.
2. ©Deng, W., Wu, J., Wang, F., Kano, J., Dehe, P.M., Inoue, H., Chen, J., \*Lei, M. (2015). Fission yeast telomere-binding protein Taz1 is a functional but not a structural counterpart of human TRF1 and TRF2. *Cell Res.* 25:881-884.
3. ▲\*Kano, J. (2013). Release of chromosomes from the nuclear envelope: a universal mechanism for eukaryotic mitosis? *Nucleus* 4:100-104.
4. ▲Fujita, I., Tanaka, M., \*Kano, J. (2012). Identification of the functional domains of the telomere protein Rap1 in *Schizosaccharomyces pombe*. *PLoS ONE* 7: e49151.
5. ▲Fujita, I., Nishihara, Y., Tanaka, M., Tsujii, H., Chikashige, Y., Watanabe, Y., Saito, M., Ishikawa, F., Hiraoka, Y., \*Kano, J. (2012). Telomere-nuclear envelope dissociation promoted by Rap1 phosphorylation ensures faithful chromosome segregation. *Curr. Biol.* 22:1932-1937.

#### 高田班

1. Hira A, Yoshida K, Sato K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Shimamoto A, Tahara H, Ito E, Kojima S, Kurumizaka H, Ogawa S, \*Takata M, Yabe H, Yabe M. (2015). Mutations in the Gene Encoding the E2 Conjugating Enzyme UBE2T Cause Fanconi Anemia. *Am. J. Hum. Genet.* 96:1001-1007.
2. ▲Unno J, Itaya A, Taoka M, Sato K, Tomida J, Sakai W, Sugawara K, Ishiai M, Ikura T, Isobe T, Kurumizaka H, \*Takata M. (2014). FANCD2 binds CtIP and regulates DNA-end resection during DNA interstrand crosslink repair. *Cell Rep.* 7:1039-47.

- ▲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 KI, Kamiya K, Matsuura A, Matsuda T, Ikura T, Ishiai M, \*Takata M. (2013). A novel interplay between the Fanconi anemia core complex and ATR-ATRIP kinase during DNA cross-link repair. *Nucleic Acids Res.* 41:6930-6941.
- Hira A, Yabe H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Nakamura J, Kojima S, Ogawa S, Matsuo K, Takata M., Yabe M. (2013). Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood.* 122:3206-3209.
- 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., \*Kurumizaka H. (2012). Histone chaperone activity of Fanconi anemia proteins, FANCD2 and FANCI, is required for DNA crosslink repair. *EMBO J.* 31:3524-3536.

<公募研究発表論文> 主要論文のみ記載。全て査読あり

田中耕三班

- Isidor, B., (35人中34番目) \*Tanaka, K., \*Bézieau, S (\*equally contributors). (2016) De Novo Truncating Mutations in the kinetochore-microtubules attachment gene *CHMP1* Cause Syndromic Intellectual Disability. *Hum. Mutat.* 37:354-358.
- Iemura, K., \*Tanaka, K., (2015) Chromokinesin Kid and kinetochore kinesin CENP-E differentially support chromosome congression without end-on attachment to microtubules. *Nat Commun.* 6:6447.
- Amin, M.A., Itoh, G., Iemura, K., Ikeda, M., \*Tanaka, K., (2014) CLIP-170 is required to recruit PLK1 to kinetochores during early mitosis for chromosome alignment. *J. Cell. Sci.* 127:2818-2824.

石黒班

- (†: **equally contributed**)†Kim J, †Ishiguro K., Nambu A., Akiyoshi B., Yokobayashi S., Kagami A., Ishiguro T., Pendas A.M., Takeda N., Sakakibara Y., Kitajima T.S., Tanno Y., Sakuno T., \*Watanabe Y. (2014). Meikin is a conserved regulator of meiosis-I-specific kinetochore function. *Nature* 517:466-471.
- Ishiguro K., Kim J, Shibuya H, Hernández-Hernández A, Suzuki A, Fukagawa T, Shioi G, Kiyonari H, Li XC, Schimenti J, Höög C, \*Watanabe Y. (2014). Meiosis-specific cohesin mediates homolog recognition in mouse spermatocytes. *Genes Dev.* 28: 594-607.

幸田班

- ▲Kohda T., Ishino F. (2013) Embryo manipulation via assisted reproductive technology and epigenetic asymmetry in mammalian early development. *Philos. Trans R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 368: 20120353
- ▲Kohda T. (2013) Effects of embryonic manipulation and epigenetics. *J. Hum. Genet.* 58: 416-420.

筒井班

- \*Tsutsui, Y., Kurokawa, Y., Ito, K., Siddique, M.S., Kawano, Y., Yamao, F., \*Iwasaki, H. (2014). Multiple regulation of rad51-mediated homologous recombination by fission yeast fbh1. *PLoS Genet.* 10(8):e1004542.
- Murayama, Y., Kurokawa, Y., Tsutsui, Y., \*Iwasaki, H. (2013). Dual regulation of Dmc1-driven DNA strand exchange by Swi5-Sfr1 activation and Rad22 inhibition. *Genes Dev.* 27:2299-2304.

深尾班

- ▲Aoyama, Y., Yamamoto, T., Sakaguchi, N., Ishige, M., Tanaka, T., Ichihara, T., Ohara, K., Kouzan, H., Kinoshita, Y., \*Fukao, T. (2015). Application of Multiplex ligation-dependent probe amplification and identification of a heterozygous Alu-associated deletion and a uniparental disomy of chromosome 1 in two Japanese patients with 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency. *Int. J. Mol. Med.* 35:1554-1560.
- \*Fukao, T., Aoyama, Y., Murase, K., Hori, T., Wierenga, R., Boneh, A., 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. *Mol. Genet. Metab.* 110:184-187.
- Hori, T., \*Fukao, T., Murase, K., Sakaguchi, N., Harding, C.O., 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.

廣田耕志班

- ▲Hirota, K., Yoshikiyo, K., Guilbaud, G., Tsurimoto, T., Murai, J., Tsuda, M., Phillips, L., Narita, T., Nishihara, K., Kobayashi, K., Yamada, K., Nakamura, J., Pommier, Y., Lehmann, A., Sale, J., and Takeda, S. (2015). The POLD3 subunit of DNA polymerase  $\delta$  can promote translesion synthesis independently of DNA polymerase  $\zeta$ . *Nucleic Acids Res.* 43:1671-1683.
- ▲Asada, R., Takemata, N., Hoffman, C.S., Ohta, K., and \*Hirota, K. (2015). Antagonistic controls of chromatin and mRNA start site selection by Tup family corepressors and the CCAAT-binding factor. *Mol. Cell. Biol.* 35:847-855.

小串班

- \*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.
- \*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.

升方班

- Tazumi, A., Fukuura, M., Nakato, R., Kishimoto, A., Takenaka, T., Ogawa, S., Song, J., Takahashi, T.S., Nakagawa, T., Shirahige, K., \*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.
- Kanke, M., Kodama, Y., Takahashi, T.S., Nakagawa, T., \*Masukata, H. (2012). Mcm10 plays an essential role in origin unwinding after loading of the CMG components. *EMBO J.* 31:2182-2194.
- Handa, T., Kanke, M., Takahashi, T.S., Nakagawa, T., \*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.

仁木班

- Aoki, K., Shiwa, Y., Takada, H., Yoshikawa, H., \*Niki, H. (2013). Regulation of nuclear envelope dynamics via APC/C is necessary for the progression of semi-open mitosis in *Schizosaccharomyces japonicus*. *Genes Cells.* 18:733-752.
- Shiomi, D., Toyoda, A., Aizu, T., Ejima, F., Fujiyama, A., Shini, T., Kohara, Y., \*Niki, H. (2013) Mutations in cell elongation genes mreB, mrdA and mrdB suppress the shape defect of RodZ-deficient cells. *Mol. Microbiol.* 87:1029-44.

- Shiomi, D., \*Niki, H. (2013). A mutation in the promoter region of zipA, a component of the divisome, suppresses the shape defect of RodZ-deficient cells. *Microbiologyopen* 2:798–810.

#### 広田班

- Nagasaka, K., Hossain, J.M., Roberti, J.M., \*Ellenberg, J., \*Hirota, T. (2016). Sister chromatid resolution is an intrinsic part of chromosome organization in prophase. *Nat. Cell. Biol.* AOP.
- Abe, Y., Sako, K., Takagaki, K., Hirayama, Y., Uchida, K.S.K., Herman, J.A., DeLuca, J.G., \*Hirota, T. (2016) HP1-Assisted Aurora B Kinase Activity Prevents Chromosome Segregation Errors. *Dev Cell.* 36:487-497.
- Gallego-Paez, L.M., Tanaka, H., Bando, M., Takahashi, M., Nozaki, N., Nakato, R., \*Shirahige, K., \*Hirota, T. (2014). Sme5/6-mediated replication progression contributes to chromosome assembly in human cells. *Mol. Biol. Cell.* 25:302-317.

#### 前川班

- Yoshida, K., Maekawa, T., Zhul, Y., Renard-Guillet, C., Chatton, B., Inoue, K., Uchiyama, T., Ishibashi, K., Yamada, T., Ohno, N., Shirahige, K., Okada-Hatakeyama, M., Ishii, S. (2015). The transcription factor ATF7 mediates lipopolysaccharide-induced epigenetic changes in macrophages involved in innate immunological memory. *Nature Immunology*, 16:1034-1043.
- Seong, K., Maekawa, T., 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.

#### 伊藤班

- \* Ito, S., \* Kuraoka, I. (\* Co-corresponding) (2015). Epigenetic modifications in DNA could mimic oxidative DNA damage: A double-edged sword. *DNA Repair.* 32:52-57.
- Shibutani, T., \* Ito, S., Toda, M., Kanao, R., Collins, L.B., Shibata, M., Urabe, M., Koseki, H., Masuda, Y., Swenberg, J.A., Masutani, C., Hanaoka, F., Iwai, S., \* Kuraoka, I. (\* Co-corresponding) (2014). Guanine-5-carboxylcytosine base pairs mimic mismatches during DNA replication. *Scientific Reports* 4:5220.

#### 正井班

- ▲ Kanoh, Y., Matsumoto, S., Fukatsu, R., Kakusho, N., Kono, N., Renard-Guillet, C., Masuda, K., Iida, K., Nagasawa, K., Shirahige, K. and \*Masai, H. (2015) Rif1 binds to G-quadruplexes and suppresses replication over long distances. *Nature Struct. Mol. Biol.* 22:889-897.
- Hayano, M., Kanoh, Y., Matsumoto, S., Shirahige, K. and \*Masai, H. (2012) .Rif1 is a global regulator of timing of replication origin firing in fission yeast. *Genes Dev.* 26:137-150.
- 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.

#### 丁班

- Ding DQ, Haraguchi T, \*Hiraoka Y (2016). A cohesin-based structural platform supporting homologous chromosome pairing in meiosis. *Curr Genet*, doi:10.1007/s00294-016-0570-x
- ▲ Ding DQ, Matsuda A, Okamasa K, Nagahama Y, Haraguchi T, \*Hiraoka Y (2016). Meiotic cohesin-based chromosome structure is essential for homologous chromosome pairing in *Schizosaccharomyces pombe*. *Chromosoma*, 125:205-214.
- Ding DQ, Okamasa K, Yamane M, Tsutsumi C, Haraguchi T, Yamamoto M, \*Hiraoka Y (2012). Meiosis-specific noncoding RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis. *Science* 11:732-6

#### 高橋班

- ◎ ▲ \*Takahashi H., et al. (11人中1番目) (2015). Construction of possible integrated predictive index based on EGFR and ANXA3 polymorphisms for chemotherapy response in fluoropyrimidine-treated Japanese gastric cancer patients using a bioinformatic method. *BMC Cancer*, 15: 718.
- ◎ ▲ \*Takahashi H., et al. (20人中1番目) (2014). Application of a combination of a knowledge-based algorithm and 2-stage screening to hypothesis-free genomic data on irinotecan-treated patients for identification of a candidate single nucleotide polymorphism related to an adverse effect. *PLoS ONE*, 9: e105160.

#### 中川班

- Blaikley, E.J., Tinline-Purvis, H., Kasperek, T.R., Marguerat, S., Sarkar, S., Hulme, L., Hussey, S., Wee, B.Y., Deegan, R.S., Walker, C.A., Pai, C.C., Bähler, J., Nakagawa, T., \*Humphrey, T.C. (2014). The DNA damage checkpoint pathway promotes extensive resection and nucleotide synthesis to facilitate homologous recombination repair and genome stability in fission yeast. *Nucleic Acids Res.* 42:5644-56.

#### 藤田班

- ▲ Sugimoto, N., Maehara, K., Yoshida, K., Yasukouchi, S., Osano, S., Watanabe, S., Aizawa, M., Yugawa, T., Kiyono, T., Kurumizaka, H., Ohkawa, Y., \*Fujita, M. (2015). Cdt1-binding protein GRWD1 is a novel histone-binding protein that facilitates MCM loading through its influence on chromatin architecture. *Nucleic Acids Res.* 43:5898-5911.

#### 釣本班

- ▲ Okimoto, H., Tanaka, S., Araki, H., Ohashi, E., \*Tsurimoto, T. (2016). Conserved interaction of Ctf18-RFC with DNA polymerase ε is critical for maintenance of genome stability in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Cells* 21:482-491.
- Takeishi, Y., Iwaya-Omi, R., Ohashi, E., \*Tsurimoto, T. (2015). Intramolecular Binding of the Rad9 C Terminus in the Checkpoint Clamp Rad9-Hus1-Rad1 Is Closely Linked with Its DNA Binding. *J Biol Chem.* 290:19923-19932.

#### 深川班

- Nagpal, H., Hori, T., Furukawa, A., Sugase, K., Osakabe, A., Kurumizaka, H., \*Fukagawa, T. (2015). Dynamic changes in the CCAN organization through CENP-C during cell-cycle progression. *Mol. Biol. Cell* 26:3768-3776.
- Hori T, Shang WH, Toyoda A, Misu S, Monma N, Ikeo K, Molina O, Vargiu G, Fujiyama A, Kimura H, Earnshaw WC, \*Fukagawa T. (2014). Histone H4 Lys 20 mono-methylation of the CENP-A nucleosome is essential for kinetochore assembly. *Dev. Cell* 29:740-749.

#### 田中誠司班

- Tanaka S, Araki H. Chapter 13. pp 263-278. Role of CDK in replication initiation. in “The Initiation of DNA Replication in Eukaryotes”. Springer. (2016) Ed. Kaplan DL, ISBN 978-3-319-24696-3.
- ▲ Tanaka S\*, Miyazawa-Onami M, Iida T, Araki H. (2015). iAID: an improved auxin-inducible degron system for the construction of a ‘tight’ conditional mutant in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 32:567-581.

#### 谷内班

1. Sakaguchi S, Hainberger D, Tizian C, Tanaka H, Okuda T, Taniuchi I, \*Ellmeier W. (2015). MAZR and Runx factors synergistically repress ThPOK during CD8+ T cell lineage development. *J. Immunol.* 195:2879-2887.
2. Mishima Y, et al., (20人中19番目) (2014) Histone acetylation mediated by Brd1 is crucial for Cd8 gene activation during early thymocyte development. *Nat Commun.* 5:5872.

#### 藤本班

1. ▲Fujimoto, A. et al., (50人中1番目) (2016). Whole genome mutational landscape and characterization of non-coding and structural mutations in liver cancer. *Nat Genet* (in press).
2. Fujimoto, A. et al., (31人中1番目) (2015). Whole-genome mutational landscape of liver cancers displaying biliary phenotype reveals hepatitis impact and molecular diversity. *Nat Comms* 6: 6120.

#### <書籍>

1. 小林武彦 「寿命は何が決めるのか～長生き遺伝子のヒミツ」 岩波ジュニア新書 (2016)
2. 小川 (西秋) 葉子, 太田邦史 (共著) 「生命デザイン学入門」 岩波ジュニア新書 (2016)
3. 中山潤一 (訳) N.キャリー (著) 「ジャンク DNA～ヒトゲノムの98%はガラクタなのか～」 丸善出版 (2016)
4. 中山潤一 (訳) N.キャリー (著) 「エピジェネティクス革命～世代を超える遺伝子の記憶～」 丸善出版 (2015)
5. 小林武彦 (共著) 「ゲノムを司るインターメア～非コードDNAの新たな展開～」 化学同人 (2015)
6. 小林武彦 (共著) 「遺伝子が語る生命 38億年の謎」 悠書館、国立遺伝研編 (2014)
7. 小林武彦, 加納純子 他 (共著) 岩波書店 岩波生物学辞典 第5版 (2013)
8. 小林武彦 (共著) 「遺伝子図鑑」 悠書館、国立遺伝研編、(2013)
9. 太田邦史 「エピゲノムと生命」 講談社ブルーバックス (2013)
10. 太田邦史 理系総合のための生命科学 (第3版) (有性生殖と遺伝) 87-97. 羊土社 (2013)
11. 太田邦史 キャンベル生物学 (第9版訳) (「免疫」) 1085-1112.丸善出版 (2013)
12. 太田邦史 「自己変革するDNA」 みすず書房 (2011)

#### <領域ホームページ>

「ゲノムを支える非コードDNA領域の機能」 <http://www.nsc.nagoya-cu.ac.jp/~jnakayam/ncDNA.html>

#### <領域主催シンポジウム>

1. 領域終了シンポジウム「ゲノム研究の未来～インターメアと染色体制御～」 2016年3月東京都文京区、東大中島記念ホール
2. 国内シンポジウム「インターメアによる染色体制御機構」 2014年1月東京都文京区、東大山上会館
3. 国際シンポジウム「インターメアと進化」 2013年8月、神奈川県葉山町、湘南国際村センター
4. 国際シンポジウム「Non-coding DNA and Chromosomal Integrity」 2015年8月兵庫県淡路島夢舞台国際会議場

#### <領域共催・後援シンポジウム>

1. 国際シンポジウム 3R(replication, recombination and repair)、静岡県御殿場市御殿場高原ホテル 2014年11月
2. 国際分裂酵母会議 兵庫県神戸市生田神社 2015年6月
3. 第33回染色体WS・第14回核ダイナミクス研究会合同宮城県松島松島一の坊 2016年1月
4. 第23回DNA複製・組換え・修復ワークショップ 静岡県焼津市 2015年10月
5. 第9回日本エピジェネティクス研究会 年会東京都千代田区学術総合センター 2015年5月
6. 第32回染色体WS・第13回核ダイナミクス研究会広島県廿日市安芸グランドH 2014年12月
7. 第31回染色体WS・第12回核ダイナミクス研究会 神奈川県足柄下郡箱根町ホテルおかだ 2013年11月
8. 第22回DNA複製・組換え・修復ワークショップ 宮城県仙台市ホテルニュー水戸屋 2013年11月
9. 酵母からのエピジェネティクス研究へのメッセージ 福井県あわら市 2013年9月
10. 第30回染色体WS・第11回核ダイナミクス研究会淡路夢舞台国際会議場 兵庫県淡路市 2012年12月
11. 第29回染色体WS 宮城県仙台市ホテルニュー水戸屋 2012年1月

#### <領域主催講習会>

1. 「次世代シーケンサー講習会」 東京都目黒区東大駒場キャンパス 2012年8月22日～24日
2. 「人工染色体(HAC)講習会」 2012年2月27日～3月2日 千葉県木更津市かずさDNA研究所

#### <領域主催アウトリーチ活動等>

1. 市民公開講座「ゲノムの調べ」 2015年2月8日横浜情文ホール、神奈川県横浜市
2. 高校生対象「生命科学への誘い」 2012年8月より毎年夏休み開催 国立遺伝研(静岡県三島市)、東京大学(東京都文京区)

#### <領域ニュースレター>

年2回、計9号発行した。研究内容の紹介、成果報告、領会議報告、研究会の案内、など。

#### <領域公開データベース>

1. モチーフ分布解析ソフト1 (Polymorphism) <http://charles.biology.tohoku.ac.jp/pomber/polymorphism/>
2. モチーフ分布解析ソフト2 (Evenness) <http://charles.biology.tohoku.ac.jp/pomber/evenness/>
3. モチーフ分布解析ソフト3 (Distribution) <http://charles.biology.tohoku.ac.jp/pomber/distribution/>
4. Yeast rDNA stability DataBase <http://lafula-com.info/kobayashiken/geldata/index.php>

## 7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況（2ページ以内）

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、総括班研究課題の活動状況も含め、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

本領域では、個人研究の枠を超えた連携研究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）に分け（図2）、計画班員はその中で親密に計画を練り、テクノロジー・ハブを中心とした研究手段と情報をシェアしながら研究を進めてきた。計画班員だけではカバーできない分野の研究者や、新たな研究系・解析手段を持つ研究者を公募研究によって補完し、領域全体の目標完遂を目指した。総括班は、内部の計画研究者からなる研究代表者1名（小林）、研究分担者2名（太田、中山）、連携研究者6名、および外部から招聘する当該分野のエキスパート5名からなる研究協力者から構成される。総括班は研究面においては全体の舵取り役（ブレイン）として機能し、個々の研究から離れたところで本領域の方向性をチェックし、公募班も含めた共同研究を推進してきた。特に外部のエキスパート5名には毎回会議に来ていただき、客観的な評価、助言をいただいた。

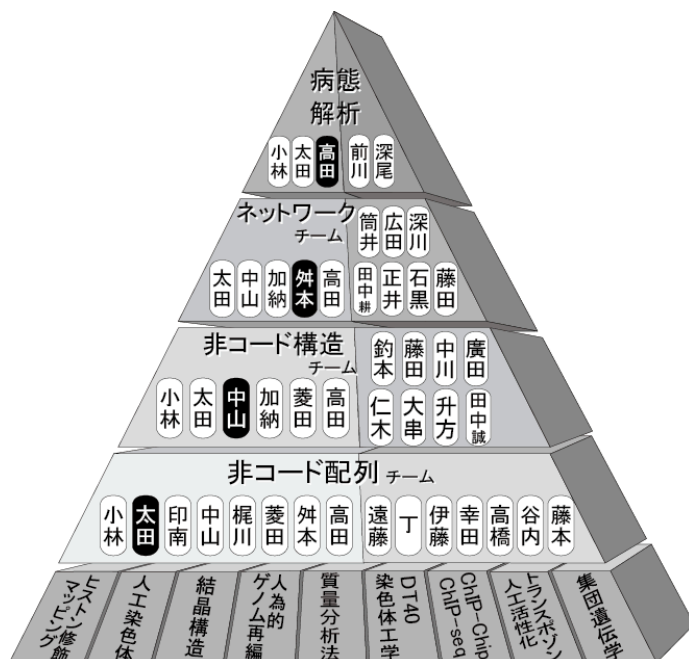


図2 研究体制 左が計画班、右が公募班

総括班（担当）：小林（代表）、中山（広報）、太田（事務・評価）、菱田（共通利用）高田（病態解析 G の統括）、舂本（ネットワーク解析 G の統括）、加納（事務）、印南（配列解析 G の統括）梶川（広報）

総括班外部協力者（所属）：荒木弘之（遺伝研）、篠原彰（阪大）、柴田武彦（理研）、平野達也（理研）、柳田充弘（OIST）

### 【主な共同研究の成果】

公募班も含めて 46 件の領域内共同研究が行われた。既に共著論文として発表済みのものは 13 件、論文作成準備中のものは 11 件ある（図3）。データベースも 2 つ作成し公開している。以下共同研究の代表例をいくつか挙げる。

1. 加納班、太田班が分裂酵母 Sgo2 欠損株の RNA 発現をマイクロアレイで解析し、Sgo2 がサブテロメア遺伝子群の発現維持に重要であることを発見（2016 *Nature comm* 誌に発表）。
2. 小林班を中心に酵母 rDNA 不安定変異株データベースを作成し公開。中山班、高田班共同で解析。（<http://lafula-com.info/kobayashiken/geldata/index.php>）（2016）
3. 中山班（古賀）、舂本班がセントロメア配列の進化について新発見（2016 *Biol Lett* 誌に発表）。
4. 加納班、升方班が sgo2 遺伝子破壊株における後期複製開始点の発火状態について解析（2016

*Nature comm* 誌に発表)。

5. 小林班が正井班の協力で動物細胞の複製阻害配列の同定に成功 (2015 *Mol Cell Biol* 誌に発表)。
6. 印南班が中心となり非コード領域部の解析ツールを開発し公開。  
http://charles.biology.tohoku.ac.jp:3838/pombermd/distribution.Rmd (2015)
7. 太田班、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た (2014 *Genes Cells* 誌に発表)。
8. 印南班、中山班、太田班、小林班が分裂酵母野生株 32 種のゲノム・シーケンスを実施 (2014 年 *PLoS One* に発表、プレスリリース)
9. 仁木班、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 (2013 *J Biol Chem* 誌に発表)。
10. 田中班、広田班がセントロメアと微小管の位置関係について新発見 (2013 *Cancer Sci.* 誌に発表)。
11. 太田班、正井班、廣田班との共同研究で、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)。
12. 小林班、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 (2012 *BBRC* 誌に発表)。
13. 高田班、印南班が FANCIJ-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 が頻発することを発見 (2011 *Genes Cells* 誌に発表)。
14. 高田班と舂本班がセントロメア関連因子と、ファンコニ貧血 (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を解明 (論文準備中)。

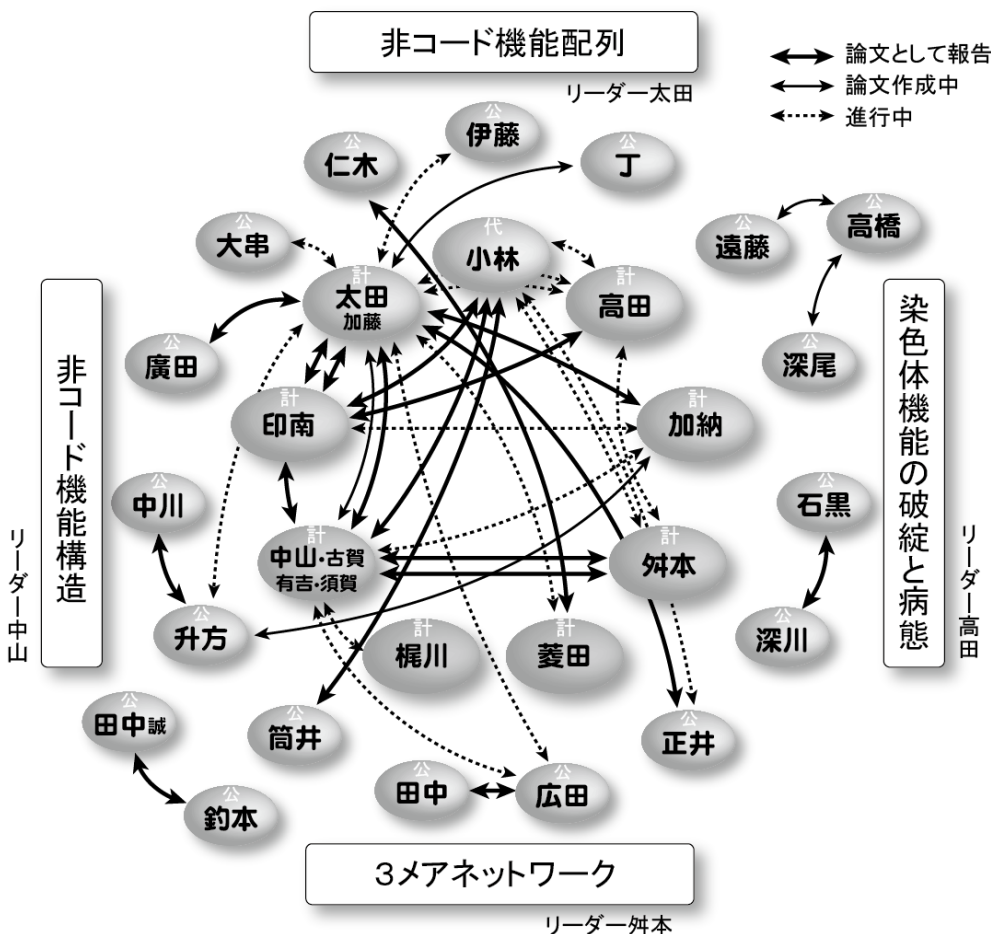


図3 連携研究による成果の発表状況

46 件の共同研究が行われ、既に共著論文として発表済みのものは 13 件、論文作成準備中のものは 11 件ある。



## 8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む。）（1ページ以内）

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記述してください（総括班における設備共用等への取組の状況を含む。）。

当領域では、高額機器を「テクノロジー・ハブ」という共同利用システムに組み込み、お互いに貸し借りできる仕組みを構築し効果的に運用した。中でも総括班牙算で購入した次世代シーケンサーは以下に示すように高頻度で使用され、共同研究の牽引役になった。

<次世代シーケンサー利用状況について>

東京大学太田研究室では Illumina 社の Genome Analyzer IIx (GAIIX) および MiSeq の計 2 台、東京大学小林研究室では MiSeq 1 台の次世代シーケンサーを利用している。これらで、以下の共同研究を中心とした解析を行った。また、共同利用を進めるための技術講習会も 2 回行った（「次世代シーケンサー講習会」「人工染色体(HAC)講習会」）。

### GAIIX の活用状況（太田研究室）

1. 正井班と、セントロメア・テロメア関連タンパク質の解析のために、分裂酵母 ChIP-Seq (Rif1 in WT, *taz1Δ*, *rap1Δ*) およびマウス ES 細胞 ChIP-Seq (mAND-1) を実施した。
2. 加納班と分裂酵母 ChIP-Seq (Rap1-Myc, Hrp3-Myc) の解析を行った。
3. 中山班の須賀らとヘテロクロマチン構造解析のために、出芽酵母 ChIP-Seq (Set1, Set2) を実施した。
4. 太田班の伊藤らが出芽酵母減数分裂期のクロマチン構造に関する ChIP-Seq (7 サンプル) を実施した。
5. 太田班の分裂酵母 ChIP-Seq (2 サンプル) により非コード RNA とクロマチン構造の関連を解析した。

### MiSeq の活用状況（太田研究室）

1. 加納班と分裂酵母の ChIP-Seq により、テロメア結合タンパク質 Rap1、Taz1 の解析を行った(2件)。
2. 中山班の須賀と出芽酵母の ChIP-Seq で Set1, Set2, Set3, Set4, Set5, Set10(10 サンプル) の局在を解析した。
3. 太田班でヒストン修飾に関する研究のために分裂酵母の ChIP-Seq を計 28 サンプル解析した。
4. 太田班で減数分裂期の組換え関連タンパク・ヌクレオソーム構造関連タンパクなど、計 71 サンプルの解析を行った。
5. 中山班、小林班、菱田班らとは、酵母ゲノムの re-sequence 計 3 件の解析を行った。
6. 印南班とはバクテリアゲノムの re-sequence (96 サンプル)、太田班ではマウスの re-sequence (4 サンプル)、出芽酵母やシロイヌナズナの re-sequence (計 20 サンプル)、抗体ゲノム組換え解析 (計 7 サンプル) を解析し、ゲノム・遺伝子再編成に関する研究を行った。
7. 太田班では、分裂酵母 RNA-Seq・ribosome profiling により非コード RNA の発現解析を実施した。

### MiSeq の活用状況（小林研究室）

領域内共同研究として、中山班、印南班、太田班と連携して、分裂酵母野生株 32 株の全配列を決定した。さらに印南班が中心となり、それらの配列からインターメア候補を探し出す解析ソフトを開発して、一般に公開している。分裂酵母野生株のゲノムの解析結果は共同研究成果として PLoS One に出版済みである。

・研究費の使用状況

(1) 主要な物品明細 (計画研究において購入した主要な物品 (設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。) について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価 (円)	金額 (円)	設置(使用)研究機関
23	蛍光顕微鏡	高解像度 3D 蛍光イメージングシステム PersonalDV (GE)	1	14,386,050	14,386,050	大阪大学
	超高感度ディテクターシステム	ライカマイクロシステムズ HyD	1	5,985,000	5,985,000	京都大学
	フローサイトメーター	ベクトン・ディッキンソン社製 BD Accuri C6	1	5,979,750	5,979,750	東京大学
	パルスフィールド電気泳動装置	バイオ・ラッドラボラトリー社製 CHEF Mapper XA チラーシステム	1	5,386,500	5,386,500	京都大学
	イメージアナライザー	GE ヘルスケア ImageQuantto LAS4000mini	1	4,063,500	4,063,500	東京大学
	リアルタイム PCR システム	バイオラッド・CFX96(C1000)	1	3,999,450	3,999,450	かずさ DNA 研究所
	倒立顕微鏡	Zeiss, AxioObserver.Z1	1	3,601,500	3,601,500	かずさ DNA 研究所
	8チャンネル 1uL 分光高度計	サーモフィッシャー・ND-8000	1	3,391,500	3,391,500	学習院大学
	マイクロチップ型電気泳動装置	アジレントテクノロジー社製 バイオアナライザ電気泳動デスクトップシステムリミテッド Agilent 2100	1	2,849,175	2,849,175	東京大学
24	siRNA ライブラリー	米国ラフテクノロジー社製 Silencer Select Library pool in plate	1	10,500,000	10,500,000	京都大学
	蛍光顕微鏡	キエンス・BZ-9000	1	5,335,050	5,335,050	名古屋市立大
	酵母用マイクロマニピュレーションシステム	シンガー社製シンガーマスマシステムシリーズ 400	1	4,294,238	4,294,238	東京大学
	遠心分離システム	Beckman Avanti J-26S XP	1	3,666,600	3,666,600	東京大学
	顕微鏡用電動 X-Y ステージ	Zeiss,BioPrecision2	1	3,436,650	3,436,650	かずさ DNA 研究所
25	クロマトグラフィーシステム	GE ヘルスケアジャパン・AKTApure 25L1	1	5,800,000	5,800,000	学習院大学
	CO2 インキュベーター式	Thermo,フォーマステリサイクル 370	1	1,942,500	1,942,500	かずさ DNA 研究所
26	小型魚類飼育システム	MEITO system MH-R1600V	1	2,130,000	2,130,000	京都大学
	リアルタイム PCR	タカラバイオリアルタイムシステム IIMRQ	1	2,641,000	2,641,000	東京大学
27	ケミルミイメージングシステム	フランス Vilber-Lourmat 社製	1	4,146,292	4,146,292	東京大学
	定量 PCR システム	StepOne リアルタイム PCR システム	1	1,998,000	1,998,000	大阪大学
	バイオハザード対策用キャビネット	パナソニック社製 MHE-132AJ-PJ	1	1,756,080	1,756,080	東京大学
	遠心機用ロータ	固定角ロータ JA-10, ベックマン	1	688,500	688,500	東京大学



(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成 23 年度】

・ 旅費

国際学会旅費 (692,306 円) EMBO コンファレンスシリーズ「減数分裂」に参加のため

国内旅費 (42,380 円) 第一回領域会議御殿場市、研究計画の発表のため。

国内旅費 (38,740 円) 第一回ゲノム編集技術研究会参加、情報収集のため。

国内旅費新学術領域会議 (37,140 円) 京都、情報交換・発表のため。

新学術領域会議参加 (72,240 円) 御殿場、京都、今後 5 年間の研究計画の発表のため。

・ 人件費・謝金

ポスドク雇用費 (1,750,000 円) 1 名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

研究補助員雇用費 (1,541,592 円) 1 名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

技術補佐員雇用 (394,900 円) 1 名、研究の補助及び資料収集・作成のため。

・ その他

論文掲載料 (383,234 円) Blackwell 社

修理 (137,151 円) NBS インキュベーターシェーカー4230

【平成 24 年度】

・ 旅費

国際学会旅費 (397,262 円) 米国ニューヨーク州、発表および研究遂行のための重要な情報を収集するため

国際学会旅費 (509,220 円) 英国ロンドン、発表および研究遂行のための重要な情報を収集するため

国際学会旅費 (569,440 円) EMBO Genome maintenance mechanisms in plants に参加、発表のため

国外旅費 (296,500 円) キーストンシンポ、カナダ、発表、情報収集のため。

日本遺伝学会第 84 回大会 (176,500 円) 2 名、福岡、研究発表及び情報交換のため。

新学術領域会議 (42,580 円) 御殿場、情報交換、研究発表のため。

染色体ワークショップ参加 (131,570 円) 2 名、淡路、口頭・ポスター発表のため。

日本分子生物学会年会参加(108,960 円) 2 名、福岡、ポスター発表のため。

・ 人件費・謝金

ポスドク雇用費 (4,200,000 円) 1 名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

研究員雇用費 (3,533,879 円) 1 名、研究を迅速に進めるため

研究補助員雇用費 (5,201,471 円) 1 名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

技術補佐員雇用 (2,069,761 円) 3 名、研究の補助及び資料収集・作成のため。

研究員 (6,273,076 円) 1 名、研究の効率向上を図るため。

パートタイマー 1 名 (1,796,988 円) 1 名、研究の効率向上を図るため。

・ その他

塩基配列解析サービス (511,874 円) DNA 塩基配列の決定

論文投稿料 (189,213 円)

英文校正費 (35,646 円)

学会参加費 (32,000 円)

【平成 25 年度】

・ 旅費

DNA 複製組換え修復ワークショップ (182,721 円) 4 名、仙台、研究発表及び情報収集のため。

日本分子生物学会第 84 回大会 (79,240 円) 神戸、情報交換のため。

日本分子生物学会参加(145,080 円) 2 名、神戸、ポスター発表のため。

・ 人件費・謝金

ポスドク雇用費 (9,000,000 円) 2 名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

研究員雇用費 (3,295,085 円) 1 名、研究を迅速に進めるため

研究補助員雇用費 (5,468,061 円) 1 名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

技術補佐員雇用 (2,263,160 円) 3 名、研究の補助及び資料収集・作成のため。

学生アルバイト (980,740 円) 大学院生 3 名、研究の補助のため。

研究員の短期雇用(637,654 円) 1 名、研究の効率向上を図るため。

パートタイマー(1,776,145 円) 1 名、研究の効率向上を図るため。

・ その他

論文投稿料、学会参加費、医学研究支援センター利用負担金 (2,927,365 円)

英文校正費 (169,567 円)

塩基配列解析サービス (163,012 円) DNA 塩基配列の決定

領域会議及び国際シンポジウム参加費 (46,100 円)

【平成 26 年度】

・ 旅費

日本放射線影響学会 (80,490 円) 鹿児島、; 研究発表及び情報収集のため。

日本遺伝学会 (102,920 円) 滋賀、2 名、研究発表及び情報収集のため。

3R 国際ワークショップ (59,912 円) 御殿場、情報収集のため。

Gordon Research Conference に参加(281,995 円) ボストン、研究成果発表のため。

新学術領域会議参加(92,000円)湯河原、会議を主催のため。

・人件費・謝金

ポスドク雇用費(6,000,000円)1名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

研究員雇用費(2,239,280円)1名、研究を迅速に進めるため

研究補助員雇用費(6,062,896円)1名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

技術補佐員雇用(3,122,399円)3名、研究の補助及び資料収集・作成のため。

学生アルバイト(1,494,436円)大学院生3名、研究の補助のため。

・その他

ヒトChIP-seqデータ解析受託(486,000円)

塩基配列解析サービス(1,252,518円)DNA塩基配列の決定

【平成27年度】

・旅費

領域主催国際シンポジウム海外講演者旅費:(246,463円、アメリカより)+(142,005円、ポルトガルより)招待講演者のため、旅費をこちらで払った。

国外旅費(135,155円)ドイツビュルツブルグ、共同研究打ち合わせ

国外旅費(142,130円)北京、AT-workshop、発表、情報収集のため。

招聘旅費(487,430円)Thomas Glover教授(デトロイト-大阪)

領域主催国際シンポジウム参加(151,350円)2名、淡路島、研究発表及び情報収集のため。

日本分子生物学会(132,520円)神戸、研究発表及び情報収集のため。

DNA複製組換え修復ワークショップ(111,470円)3名、静岡、研究発表及び情報収集のため。

日本遺伝学会(108,770円)2名、仙台、研究発表及び情報収集のため。

日本分子生物学会年会参加(164,000円)4名、神戸、ポスター発表のため。

新学術領域会議・国際シンポジウム参加(149,720円)2名、淡路、進捗状況報告とポスター発表のため。

・人件費・謝金

ポスドク雇用費(4,500,000円)1名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

研究員雇用費(2,664,198円)1名、研究を迅速に進めるため

研究補助員雇用費(5,425,935円)1名、研究の効率的な遂行に必要であったため。

技術補佐員(2,225,583円)3名、研究の補助及び資料収集・作成のため。

学生アルバイト(2,040,597円)大学院生4名、研究の補助のため。

技術員1名(2,810,846円)1名、研究の効率向上を図るため。

・その他

サンプル輸送(54,102円)イギリス→京都

次世代シーケンス受託(393,120円)RNA-seq

修理代(71,064円)BIORAD セミドライ転写装置

塩基配列解析サービス(882,616円)DNA塩基配列の決定

(3) 最終年度(平成27年度)の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

**小林班:** 核内での rDNA の動態を調べるイメージング解析実験において、当初の予定では核内の蛍光シグナルは当然1つあるいは複製して2つになったものを想定していた。しかしその予想に反して、それ以上の数が観察される細胞が多数存在した。その原因を突き止めるのに時間を要し、スケジュールの変更を余儀なくされた。

**菱田班:** ヒストン変異体による rad18 欠損株の DNA 損傷抑圧効果の解析において、当初の予想に加えて DNA 相同組換えの制御に大きく影響を及ぼしていることが明らかになってきた。そのため、この現象の分子メカニズムを詳細に解析するため、Rad52 の蛍光観察や、組換え頻度の測定、遺伝及び物理的相互作用の検出等による組換え機能への影響を調べる実験を追加で実施している。また、Srs2 変異体による相同染色体間の組換え制御機構の解析に関して、現在論文を投稿中であるが、平成28年3月の時点で追試を要求されているため、現在、本研究をまとめるための追加実験を実施している。

**加納班:** 平成27年7月、分裂酵母のサブテロメア破壊実験の最中、当初の予想に反し、サブテロメアの個数が4つではなく、5つであることが明らかになり、さらにサブテロメア破壊の指標となるマーカー遺伝子の発現が予想以上に低く抑制されていることが明らかになった。このことから、サブテロメア破壊株の作製のために、5つ目のサブテロメアの DNA 配列の決定が必要になり、サブテロメア破壊に要する時間も当初想定したもの以上になった。27年度までに終了できなかったサブテロメア破壊株の表現型解析実験を遂行するために、物品費として一般試薬費、消耗品費、人件費としてポスドク研究員の雇用費が必要になった。

## 9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1ページ以内）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

当領域の最大のミッションは「ゲノムの秘境」と言われた非コード領域に光を与えることである。この巨大にして謎に満ちた領域に挑むため、4つ異なる観点をもったチームを編成した。この多面的なアプローチが功を奏し予想以上に多くの成果を得ることができた。以下の述べるように、それらが当該学問分野や関連分野に与えるインパクト、波及効果は極めて大きく、当領域の設立により日本が世界をリードすることができた。

小林班は最大の非コードDNA領域であるrDNAの安定性が細胞老化に与える影響を初めて明らかにした。これまでテロメアを中心に考えられていた細胞の老化研究に、新たに「rDNA」を加えることによりテロメアが短くならない幹細胞、生殖細胞の老化研究に新たなブレークスルーをもたらした。本成果は今後発展が期待される再生医療や生殖医療に大きな貢献をすると予想される。実際に海外のグループが老齢マウスの造血幹細胞の老化がrDNAの複製ストレスが原因で起こっていることを報告している(Flach et al., 2014, 512, Nature)。本成果のプレスリリースのための会見では、多くの記者の方にお集まりいただき、NHKを始めほぼすべてのキー局のニュース、新聞等で報道された。また小林班は約4,800変異株のrDNAの安定性を調べ、そのデータベースを作成して公開した。これはガンなどのゲノム改変を伴う疾患の原因遺伝子を探るために、多くの研究者が利用できる貴重な情報源になると期待される。太田班では組換えやストレス遺伝子発現制御に関わるクロマチン制御配列を同定したほか、非コードDNA領域相互作用因子として働く組換え活性化タンパク質「リエゾニン」の役割・概念を見出した。また、次世代シーケンサーを用いた解析法の効率的な利用により、多くの共同研究成果を生み出した。印南班はゲノム、特に非コード領域の進化のプロセスを、多くの種を用いて統合的に把握することにより、DNAレベルで働く機能的な制約の仕組みを解明した。未だに同定されていない重要な機能を持つ非コード領域の探索に応用できる成果である。また非コード領域に共通して現れる配列の検出ツールを開発し公開した。中山班はメチル化されたヒストンを認識するクロモドメインタンパク質が、同時にRNAにも結合できること、両者の結合が共役していること、さらにその共役がクロマチンの構造変換に重要であることを明らかにした。これは画期的な成果であり、他の多くのクロマチン制御因子の分子機構の理解へと発展する可能性が高い。舩本班はセントロメア非コードDNAに焦点を当てた領域研究を推進することにより、それがクロマチン集合、ヒストン交換反応やヘテロクロマチンの制御を介して、テロメア、転写調節、複製、組換え修復等のゲノム機能と密接に繋がっていることが明らかし、新しいゲノム観の構築に貢献した。高田班は複製フォークの詳細な解析によって、その安定化の分子機構の解明に貢献した。また、ヒト疾患病態との関連では、特に骨髄幹細胞におけるアルデヒド代謝が複製フォーク崩壊へのトリガーとなる可能性を見出し、病態の理解に寄与した。この成果は早期の病型判断を可能とし、患者マネジメントの高度化、将来の根本治療法の開発に道を開くなどのインパクトを与えた。菱田班は相同染色体間に特異的な組換え制御機構が存在し、この制御機構の異常は、非コード領域に多く存在する反復配列の不安定性や染色体喪失等の染色体不安定性を引き起こすことを発見した。今後の研究によって、がん細胞に顕著に観察される染色体不安定性に関して非コード領域の果たす役割の解明が期待できる。加納班はサブテロメアが染色体のインターメアとして重要な役割を果たしていることを明らかにした。今後発展していくことが期待されるサブテロメア研究やインターメア研究の礎を築くことができた。梶川班は今後生体内でのレトロトランスポゾン研究に欠かせないツールとなる生体内でのレトロトランスポゾン人工転移誘導系を開発した。公募班では藤本班は癌ゲノムを解析し、がんにおいて重要な非コード領域を多数検出した。これらの情報は癌の基礎及び臨床研究において貴重であることは疑いない。正井班はゲノム機能を制御する非コードDNAの重要な要素のひとつとしてグアニン4重鎖構造を同定した。升方班はテロメア結合タンパク質が内部領域で複製タイミングを制御する重要かつ新規の機能を持つことを示し、染色体の全体的な統御機能の理解に貢献した。深尾班はAlu配列がスプライシングに影響を与え遺伝性疾患の発症に関与することを発見しその理解を深めた。丁班が成し遂げた非コードRNAが染色体の認識に寄与するという新しい発見は、DNA切断に依存しない相同染色体認識にRNAの存在を初めて提示したことで、染色体研究分野で新しい概念の創出につながった。

## 10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1ページ以内）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者（※）の研究終了後の動向等を記述してください。

※研究代表者・研究分担者・連携研究者・研究協力者として参画した若手研究者を指します。

本領域では若手の育成には特に力を入れてきた。シニアの班員がラボの運営や一般的なアドバイスをするのはもちろんのこと、論文投稿時のカバーレターの書き方なども伝授してきた。さらに学生やポスドクに対しては公募情報やプレゼン方法なども必要に応じて相談にのった。以下具体的な昇進等の例（54件）を挙げる。

中山潤一（理研チームリーダー）→名市大准教授→教授  
菱田卓（大阪大准教授）→学習院大教授（特別研究員等審査会専門委員表彰）  
加納純子（大阪大テニユアトラック准教授）→大阪大独立准教授（大阪大学総長奨励賞）  
梶川一樹→研究室独立  
大川恭行（准教授）→九州大学生体防御医学研究所・教授（文部科学大臣表彰若手科学者賞）  
石黒啓一郎（助教）→慶應義塾大学医学部特任講師→熊本大学発生医学研究所 独立准教授  
堀哲也（助教）大阪大学准教授、  
西野達哉（助教）→東京理科大学准教授（日本蛋白質科学会若手奨励賞）  
筒井康博（助教）→ロシュ・ダイアグノスティクス社  
三好知一郎：（特任研究員）→ミシガン大ポスドク→京都大学准教授  
藤本明洋（理研研究員）→京大特定准教授（日本遺伝学会大会ベスト・ペーパー賞）  
佐々木真理子（学振研究員）→東大助教  
久郷和人（特任研究員）→東京大学・特任助教→かずさ DNA 研究所研究員  
家村顕自（産学官連携研究員）→東北大学加齢医学研究所助教（日本細胞生物学会若手優秀発表賞）  
中野めぐみ（かずさ DNA 研究員）→バイオベンチャーに就職  
岡村佳明（ポスドク）→医療関係翻訳会社に就職  
宅野将平（ポスドク）→総合大学院大学先端科学研究科・助教（任期付）  
杉野隆一（ポスドク）→埼玉県立がんセンター・研究員（常勤）  
秋田鉄也（ポスドク）→水産総合研究センター 国際水産資源研究所・研究員（テニユアトラック）  
竹内やよい（ポスドク）→国立環境研究所・研究員（テニユアトラック）  
梶川班ポスドク2名→海外でポスドク  
白井温子（ポスドク）→理化学研究所 定年制研究員  
林亜紀（ポスドク）→関西学院大学 助教  
大屋恵梨子（ポスドク）→スウェーデン・カロリンスカ研究所へ留学  
亀高愛（ポスドク）→藤田保健衛生大、URA として異動  
阿部優介（ポスドク）→日本学術振興会・特別研究員（PD）に採用  
進藤軌久（ポスドク）→研究員に昇進  
加納豊（ポスドク）→主席研究員へ昇進  
伊藤班の基礎科学特別研究員→定年制研究員  
Nihat Yasmin（ポスドク）→University of Management and Technology (UMT) Assistant Professor  
マリネラ ペルペレスク（ポスドク）→東工大博士研究員  
大竹興一郎（大学院生）→かずさ DNA 研特任技術員  
山崎聡志（大学院生、ポスドク）→製薬会社に就職  
Josephine Galipon（大学院生）→東京大学・特任助教→慶應義塾大学・特任助教  
八島亮子（大学院生）→武蔵野大学・助教（任期付）  
山田信太郎（大学院生）→Memorial Sloan Kettering Cancer Center ポスドク  
黒沢耕平（大学院生）→シカゴ大ポスドク（一高賞）  
伊藤将（大学院生）→カルフォルニア大デビス校ポスドク（日本遺伝学会大会ベスト・ペーパー賞）  
小田有沙（大学院生）→東京大学特任助教  
河野宏光（大学院生）→東京大学助教  
Liu Binbin（大学院生）→ポスドク  
青山友佳（大学院生）→中部大学の助教  
長坂浩太（大学院生）→Research Institute of Molecular Pathology, IMP (Vienna)留学  
Gallego-Paez, L.M.（大学院生）→Gulbenkian Institute (Lisbon)留学  
西淵剛平（大学院生）→フランス・IGH へ留学  
石田真由美（大学院生）→徳島大学ポスドク  
中山班院生→化学系企業に就職  
菱田班院生4名→企業に就職  
佐川みなみ（大学院生）→私立高校の教員  
豊福直子（大学院生）→製薬企業に就職

## 11. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

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。

（すべて原文のまま掲載）

### 柳田充弘（沖縄科学技術大学院大学・教授）

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を主たる研究目標とし、研究の経過はおおむね順調に成果をあげている。特に代表者の小林は、最大の非コード DNA 領域である rDNA の安定性が細胞老化に与える影響を明らかにした。テロメア依存性の細胞の老化研究に、新たに「rDNA」を加えることにより生殖細胞の老化研究に新たなブレイクスルーをもたらした。各班ともにそれぞれの分野で新たな知見をもたらした。班のリーダーが独自の技術基盤を持つことがこの領域の強みであり、また代表者の幅広い関心も反映されて、魅力的な領域に成長してきた。ただ、ドライ系の研究とウエット系の融合はなかなか難しいようで生みの苦しみのままに本領域が終了したのは残念でもあります。計画研究班のみならず公募研究の中にも魅力的な研究が多くあった。そのひとつ、丁らは、相同染色体対合に非コード DNA が重要な役割を果たすことを発見した (Ding et al. 2012 Science)、その作用原理に 5 つ RNA 結合タンパク質が関連することを明らかにし、さらに領域内共同研究により、関連タンパク質の染色体結合部位を詳しく解析した。領域代表者がのべているとおり、非コード RNA が染色体の認識に寄与するという新しい発見であり、DNA 切断に依存しない相同染色体認識に RNA の存在を初めて提示したことで重要な成果である。現在研究費獲得が極めて困難な時代に入っており、この領域のような研究が今後も支持されていくことは将来的に非常に大切であり、研究成果のより魅力的な提示に心がけ生存を続けて頂くことを切に望む次第である。

### 篠原彰（大阪大学・教授）

新学術領域研究は「非コード DNA」として古典的な染色体構造であるセントロメア、テロメアに加えて、本領域で新規に提案したインタメアの 3 メアの構造、機能、ネットワーク、そして、その破綻による病態を解析する研究領域である。当該分野で実績を上げた計画班メンバーを中心に共同研究のネットワークを作り、5 年間で「非コード DNA」に関する数多くの業績を上げて来ており、その進展は大きく評価できる。特に、次世代 DNA シークエンサを用いたゲノム解析の充実化、特に、情報学との融合を図ることで、当該領域の日本の研究力を世界レベルに引き上げた貢献は大きい。共同研究を柱に、様々な分野の研究者を幅広く取り組んだことから、ヨザルのヘテロクロマチンの研究に見られるように予想外の成果も複数上がっている。また、領域代表者のリーダーシップのもと、領域内外での共同研究、講習会の実施による技術普及、若手研究者の育成も十分に行われていることも高く評価できる。研究成果は論文発表から見ても十分に上がっていると言える。平成 26、27 年の論文発表数は 22-25 年度と比較すると少ない印象を受けるが、近年は高インパクトジャーナルであればあるほど、分野横断的な、大量の成果を要求されるため、領域期間内に実施された共同研究を含めた個々のメンバー研究の大半が論文準備中になっているので、今後、次の 2 年で、さらなる業績の増加が期待できる。

### 荒木弘之（国立遺伝学研究所・教授）

本新学術領域では、セントロメア、テロメア以外の染色体の非コード領域に潜む機能配列をインターメアと名付け、その全容を明らかにしようとした。期間前半での精力的なゲノム配列の決定にともなう大量データ解析を、新たな解析手法の導入と公募による解析を得意とする新規メンバーの獲得により可能にしたことは評価される。また、ややもすると通常の機能解析との違いが領域外の人からよく理解されない点を、インターメアに関する書籍を上梓することにより対応しようとするエネルギーには感心する。ただ、まだまだ「インターメア」という用語は一般的ではなく、今後も領域に関与した人たちの努力を期待する。現在、出版あるいは出版しようとしている論文の数も多く、この領域の一般からの評価はこれらの報告が出された後にされることとなるのであろう。

成果からは領域構成員の努力や大きなエネルギーを感じ、高く評価できるものである。しかし、報告書に個々の機能部位やその解析の記述から、インターメアという言葉で括ったとき、何が言えているのだろうか。すぐそこに解があるのかどうかはよくわからないが、このような領域の研究が今後も必要であることは確かである。

#### 柴田武彦（元理化学研究所・主任研究員）

非コード領域研究5年間の報告を通して読んで、この領域研究によって参加メンバーの研究が質量ともに大いに進んだというのが最初の印象でした。本領域が始まった時から、「インターメア」が本当にその中身を持つことができるか気にかかっていました。その定義を “Functional non-coding elements that lie between the centromere and telomere, which we termed “intermeres”.” という形で論文（Fawcett et al. 2014 PLoS One）に載せ発表できたことで、まず、一步を固めたといえるでしょう。「染色体維持機構の破綻が細胞機能に及ぼす影響」課題で、非コード領域の存在が、巨大遺伝子や、rDNA リピートの安定性に働き、更に、老化に影響するという新境地を拓いたことは、インターメアという概念の有用性を示したと高く評価できます。更に報告からは、研究目的に沿って編成された研究チームのそれぞれが重要な成果を上げている様子が読み取れます。「非コード機能性配列の解析」では、インターメアの存在を示した上記の論文の他、四重鎖構造を誘導する配列の関わる発見や cis に働く配列の機能が注目されます。「非コード機能性配列のクロマチン構造の解析」の成果ではヘテロクロマチンの構造変化に関わるいくつもの成果が目立ちます。「染色体維持に働く3メアネットワークの解析」では、インターメア、セントロメア、テロメア（3メア）を互いに連携させている因子群の働きを明らかにしたことが評価できると思います。新しい区分の因子リエゾニンの発見もこの一つでしょう。この領域の成果には公募研究の寄与も大きく、「領域内共同研究により」と明記された成果が目立ち全体の取りまとめや領域内連携もうまく機能したといえます。評者の好みかも知れませんが、以上述べましたように、領域研究を行ったことによる効果が明確に現れていると思いました。DNA 配列からインターメアの存在を予測する技術の更なる進歩に加えて、インターメアで括る概念の有用性の深化が更に望まれ、今後、本領域で出た芽を育てる仕掛けの樹立が望まれます。

#### 平野達也（理化学研究所・主任研究員）

本領域の目的は、ゲノムの大半を占める非コード DNA 領域に焦点をあて、その染色体制御における新たな機能を明らかにしようとする野心的なものであった。その目的の達成にむけて、情報学・進化学・遺伝学・生化学・細胞生物学といった多彩なバックグラウンドをもつ研究者が集められ、これまでになく研究グループが構築されたといつてよいだろう。4つのチームからなる組織体制は元々よく練られたものであった。しかし、中間評価における指摘（例えば、情報解析に携わる研究者の不足等）を真摯に受け止め、後期公募研究として足りない人員を確保するなど、組織運営についてのきめ細かい工夫が施された。その結果、個別研究の総集を超えた優れた成果が生み出されるとともに、領域発足時には予想していなかった新たな方向性をもつ研究の萌芽が芽吹きつつある。これらの共同研究には、大型機器の運用を始めとする技術的な交流にとどまらず、新概念の構築に結びつくような成果も含まれており、こうした努力が決して形だけのものではなかったことを意味している。

発表された研究成果については国際的に評価の高いものが多数あることを指摘しておきたい。しかし一方で、インターメアという新概念を高らしめるような代表的な成果をひとつふたつ発信することができればさらに良かったにちがいない。例えば、大型共同研究としての分裂酵母野生株（計 32 株）のゲノム解析は、新たな非コード DNA 配列を抽出するという意味において、本領域のひとつの目玉であった。最低限の解析を終了して論文発表に繋がったことは素晴らしいが、領域をあげての大規模な機能解析に展開するには時間が足りなかったことは残念であった。いうまでもなく、ここで得られた配列情報は、本領域に参加した研究者にとどまらず、広く国際コミュニティに対して貴重なリソースを提供するものである。今後とも徹底したデータマイニングと機能解析の努力を継続していただきたい。

新学術領域の大きなミッションのひとつは、若手研究者の育成にある。この点について本領域は大きな成果を挙げたと結論したい。伸び盛りの若手 PI にチャンスを与えてその後の昇進の後押しをしたばかりでなく、時代を背負う大学院生・ポスドクの活躍の場を提供したことがうかがえる。高く評価したい。研究成果の発信とアウトリーチ活動についても、積極的な姿勢がうかがえた。