

領域略称名： 転写サイクル
領域番号： 3408

平成26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

「高精細アプローチで迫る転写サイクル機構の統一的理解」

(領域設定期間)

平成24年度～平成28年度

平成26年6月

領域代表者 東京工業大学・生命理工学研究科・教授・山口雄輝

目 次

研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	2
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	4
3. 研究の進展状況	7
4. 若手研究者の育成に関する取組状況	11
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）	12
6. 総括班評価者による評価	13
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	15
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）	18
9. 今後の研究領域の推進方策	23

研究領域全体に係る事項

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。

研究の学術的背景

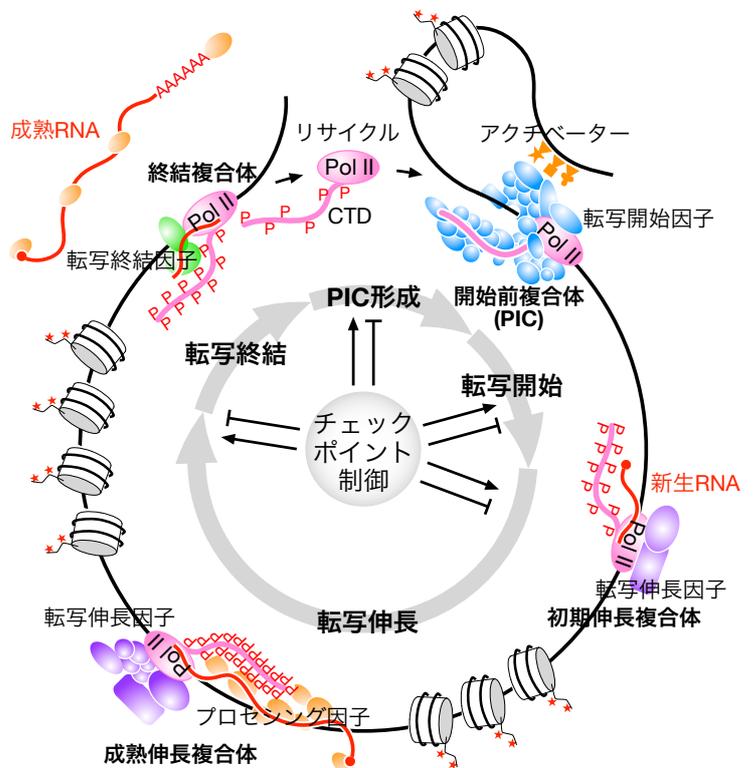
真核生物の転写研究は RNA ポリメラーゼの精製 (Roeder, 1969)、ヌクレオソームの同定 (Kornberg, 1974)、*in vitro* 転写系の確立 (Roeder, 1979) といった揺籃期を経て 1990 年代以降、開花した。転写やクロマチン因子が多数同定され、プレイヤーは出揃いつつあるが、転写のメカニズムは今なお不明な点が多い。たとえば転写は、開始前複合体 PIC の形成、開始、伸長、終結という 4 つの段階からなるが、どの段階が律速で転写制御の標的となっているのか、という基本的な問いにすら未だ正確に答えることができない。実は 2000 年頃まで、転写の律速はもっぱら PIC 形成の段階だと広く信じられていた。ところが、領域代表者の山口らによる転写伸長因子群の同定・解析が契機となって、今や転写伸長が転写開始と並んで重要な制御段階と考えられるようになった (Yamaguchi *et al.* *Cell* 1999, Guo *et al.* *Nature* 2000, Yamaguchi *et al.* *Science* 2001, Wu *et al.* *G&D* 2003, Yamada *et al.* *Molecular Cell* 2006, Narita *et al.* *Molecular Cell* 2007, Chen *et al.* *G&D* 2009)。立ち後れていた転写開始後の研究は 2000 年以降、急速に進展し、伸長や終結過程のメカニズムも解明されつつある。さらに、遺伝子のプロモーター領域だけでなくコード領域にも転写と共役して種々のヒストン修飾やクロマチンリモデリングが起こることや、キャッピング、スプライシング、ポリ(A)付加といった RNA プロセッシングが転写と密接に共役して進行すること、すなわち RNA プロセッシングまで含めた RNA 合成の各段階が互いに影響を及ぼし合いつつ、一体となって進行することが分かってきている。従来の教科書的な転写機構モデルの大幅な書き直しが迫られる中、転写の全過程の統一的理解を目指す研究が求められている。

目的の概要

転写研究の難しさは、その高度な階層性にある。転写制御のメカニズムを本当に理解するには一つまり「何がどうなると、こうなる」という因果の連鎖を論理の隙なく理解するには、個体レベルや細胞レベルから複合体・分子レベル（転写因子、DNA、RNA）、原子レベル（転写因子の化学修飾、相互作用）に至るまで、各階層の知識を統合する必要がある。しかし技術的困難さのため、これまで各階層の研究は独立に進められてきた。本領域は、各階層で転写研究を行ってきた研究者を横断的に結集することで組織されている。そして、それらの融合を促進する触媒として、先端の技術を有する研究者と情報・計算科学の専門家が参加している。

本領域の目的は『転写サイクル』の制御機構を明らかにし、その知見を高次生命現象の理解へとつなげることである。転写サイクルは cell cycle に倣った言葉で、転写の全過程を表している。最近の知見から、転写は様々な点で cell cycle に類似していると考えられる。たとえば、

- ・ 活性な遺伝子は 5'末端と 3'末端がループを形成し、Pol II はリサイクルされると考えられる。
- ・ 転写過程全体が緊密に共役しており、前の反応が次の反応に影響を及ぼしつつ進行する。
- ・ サイクルの途中にいくつかのチェックポイントが存在する。
- ・ サイクルの様々な段階でキナーゼやホスファターゼ等が働き、サイクルの進行が制御される。



cell cycle 同様、転写サイクルも外的環境に応じて時空間的な制御を受け、サイクルの様々な段階にチェックポイントが存在する。これらのチェックポイントが損なわれると発生や分化、成長に異常が生じ、がん等の疾患に至る点でも両者は似通っている。さらに、両者は実際に一部の制御因子が共有されており、生命の基幹を支える2つのシステムは機能的に関連し合っていると考えられる。

本領域で我々は、転写サイクルという新規概念を導入し、高精細アプローチ（後述）によって、これまで独立に進められてきた転写の各ステップの研究を統合し、転写制御の全体像を定量的に明らかにする。さらに、個々の遺伝子の転写サイクルが積み重なってできる細胞レベルあるいは個体レベルの転写サイクルを、高精細アプローチによって高次生命現象と結びつけ、その理解を深める。

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか

転写サイクルのような複雑な対象を統一的に理解するには、生化学や遺伝学といった既存の研究アプローチでは不十分であり、先端的技術の開発・導入が欠かせない。具体的にはゲノムワイドの解析手法や動的制御を解析する手法、その他の定量的な解析手法が必要となる。さらに、大量に生み出される情報を処理するバイオインフォマティクスや、動的解析を支援する計算科学の導入も必要となる。本領域では、生細胞1分子イメージングや動的構造解析、次世代シーケンサーを用いた ChIP-seq や RNA-seq 解析等を実施する国内拠点（共同利用システム）を立ち上げる。そして既存の研究アプローチ、先端的技術、情報・計算科学を3本柱とした「高精細アプローチ」で、転写サイクル研究を推進する。なお、高精細という言葉には、先端的技術や情報・計算科学の導入によって研究対象を細部まで描き出したい、という意味が込められている。

本領域ではまず、転写サイクルという概念を定式化する。そのために、

- ・転写過程に沿った転写複合体のリモデリングサイクルを明らかにする。
- ・転写過程に沿った Pol II のリン酸化サイクルを明らかにする。
- ・転写過程に沿ったヒストン化学修飾サイクル・クロマチンリモデリングサイクルを明らかにする。
- ・遺伝子ルーピングによる転写制御機構を明らかにする。
- ・チェックポイント制御等による転写過程全体の動的制御機構を明らかにする。

上記下線部の知見が統合されたものが、本領域の思い描く『転写サイクル』である。重要な点は、本領域のゴールが定性的なモデル図を描くことではなく、定量的解析・包括的解析を通じてその全体像を詳細に描き出すことにある、ということである。その点で、本領域の提案内容は従来の転写研究とは一線を画している。転写サイクル全体の詳細な理解は、その次に待ち受ける、システム生物学的アプローチによる遺伝子発現変化のシミュレーション・予測に欠かせない。そして、さらにその先にはゲノム創薬やエピゲノム創薬への道が開かれている。

本領域ではさらに、転写サイクルと高次生命現象とのつながりを明らかにする。高精細アプローチによって異なる階層の知見を結びつけ、本領域の班員が研究対象とする幹細胞の増殖・分化、がんや遺伝病等の疾患、植物の成長制御等を支える転写制御機構を明らかにする。

本研究が我が国の学術水準の向上・強化につながる点

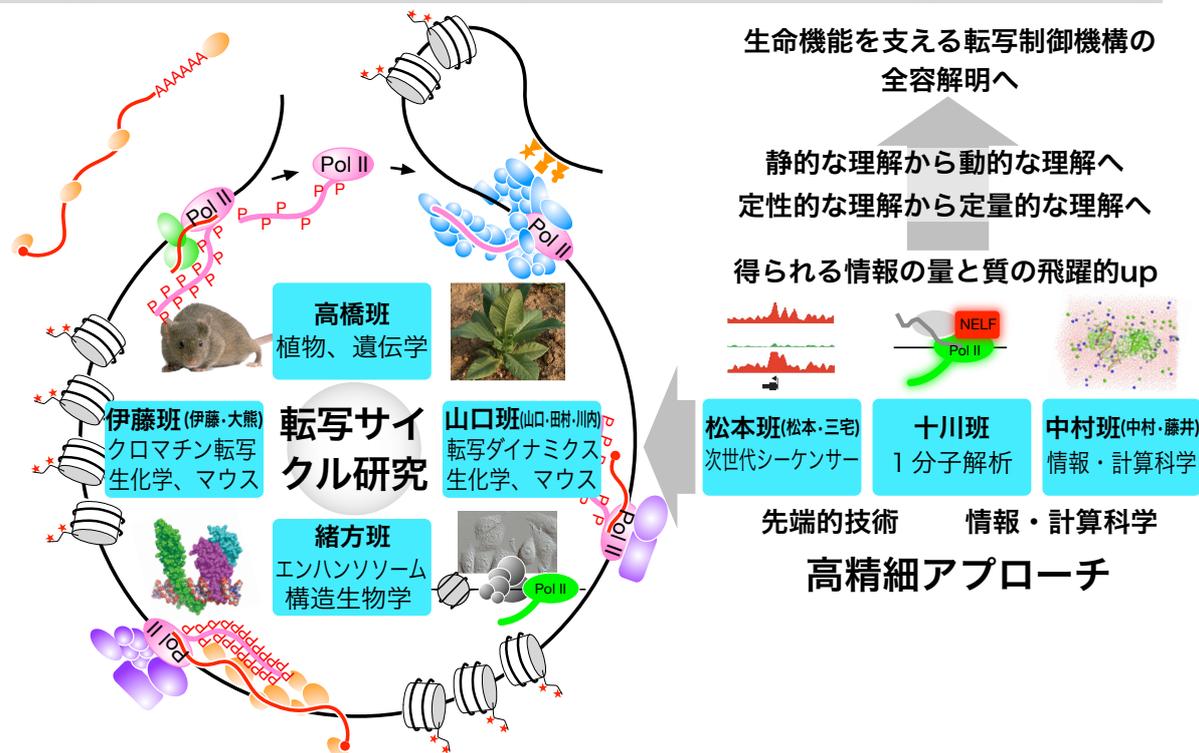
本領域は、異分野の研究者が連携して行う共同研究の推進によって転写研究の発展を目指すので「対象2」に該当する。また、多様な先端的技術を開発・導入し、2010年代の新たな転写機構論の確立を目指すので「対象3」に該当する。さらに、転写制御という世界的に競争が激しい研究分野で新しいサイエンスの基準を確立することは生命科学全体の発展につながるので「対象4」にも該当する。

本研究が我が国の学術水準の向上・強化につながる点を挙げる。第1に、本領域の取り組みは転写分野にとどまらず、より幅広い意義がある。本領域が目指しているのは、研究対象の定性的理解から定量的理解へのシフト、個別事象の理解から包括的理解へのシフトである。異分野融合型の本領域の取り組みは、生命科学全体の発展につながり、大きな波及効果を持つ。第2に、単独の研究室では導入・運用の困難な先端的技術・装置、たとえば次世代シーケンサーや1分子蛍光顕微鏡などの拠点を形成し、国内での利用・普及を促すことで、我が国の学術水準の向上に寄与する。第3に、若手研究者と経験豊富なシニア研究者がバランスよく配置された本領域は、若手研究者の支援も行っていく。公募班で若手を積極的に登用し、我が国の生命科学を担う次世代リーダーを育成する。

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。

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



H25～26公募班

氏名	研究課題名
高橋 秀尚 (北大・医)	Med26によってリクルートされる新規転写伸長複合体LECの機能解明
村上 洋太 (北大・理)	RNAポリメラーゼIIとRNA・クロマチンのクロストーク
原田 昌彦 (東北大・農)	転写サイクルにおけるクロマチンリモデリング複体のリサイクル機構の解明
村野 健作 (筑波大・医)	新規高感度レポーター系を用いたrRNA遺伝子の種特異的転写開始機構の解析
前川 利男 (理研・筑波)	次世代のマウスの遺伝子発現に影響を与える転写因子ATF-7の役割
和田 洋一郎 (東大・先端研)	炎症性刺激で誘導される転写ファクトリーの機能解析
黒柳 秀人 (医科歯科大・難治研)	転写産物の高精細プロファイリングによる転写と転写後プロセッシングの共役機構の解明
太田 力 (がんセンター)	癌細胞における転写サイクルの強制回転の解析
古久保 哲朗 (横浜市大・理)	基本転写因子TFIIDを介した転写調節機構の解明
大野 欽司 (名大・医)	神経変性疾患関連RNA結合タンパクFUSによる転写抑制機構解明
高田 彰二 (京大・理)	転写因子DNA探索のエネルギーランドスケープ理論：速度-親和性パラドックス
佐藤 ゆたか (京大・理)	DNAループによる転写調節機構の解明
横山 明彦 (京大・医)	AEP複合体による転写サイクルの制御メカニズム
藤井 穂高 (阪大・微研)	挿入的クロマチン免疫沈降法(iChIP)による細胞分化制御因子の転写機構の解明
井上 康志 (阪大・生命)	転写制御因子によるDNA立体構造変化の光学的ナノ計測法開発
ティモシー スタセビッチ (阪大・生命)	Quantifying epigenetic regulation of the transcription cycle in single living cells
米澤 康滋 (近大・先端研)	計算科学シミュレーションによるCTDの構造特性から探る転写調節機構
平田 章 (愛媛大・理工)	アーキア(古細菌)RNAポリメラーゼにおける転写開始機構および転写調節機構の解明
大川 恭行 (九大・医)	別の新学術領域の計画班員となったため、班友として協力
斉藤 典子 (熊大・発生研)	別の新学術領域の計画班員となったため、班友として協力

本領域には7つの計画研究課題がある。これらのうち松本班、十川班、中村班の3つは「高精細アプローチ」をメインで担い、それぞれ次世代シーケンサーを用いたゲノムワイド解析、1分子解析、情報・計算科学によって転写サイクル研究を支援する。残る山口班、緒方班、伊藤班、高橋班はハードコアな転写・クロマチン研究グループであり、生化学、構造生物学、遺伝学といった既存の研究アプローチをバックグラウンドとして有している。これらのグループも松本班、十川班、中村班等と共同で新しい技術の開発・導入を行いつつ研究を進め、転写サイクルの「動的」「定量的」理解を目指す。領域全体が一体的に活動することが重要と考え、研究項目はA01の1つしか設けていない。立ち上げ以降の変更点として、中村班の研究分担者でバイオインフ

オマチックスを担う皿井明倫（九工大・情報工学研究院）が H25 年度に急逝したため、藤井聡（九工大・情報工学研究院）を研究分担者に、矢田哲士（九工大・情報工学研究院）を連携研究者に加えた。

本領域の公募研究が果たすべき役割は大きく 2 つある。第 1 の役割は転写機構研究の多面的展開である。転写研究は個体レベルから分子・原子レベルまで幅広く、それらすべてを計画班でカバーするのは困難なので、様々な分野を専門とする研究グループを公募し、幅と厚みのある転写機構研究を推進する。具体的には、分子レベルの知見を個体レベルの生命現象と結びつけるような課題、転写とその他の生化学的プロセスの共役に注目して核内反応の統一的理解を目指す課題、新しい技術やアッセイ系の開発・利用を通じて転写機構の解明を目指す課題、プロテオミクスやシステム生物学等、計画班では十分にカバーしていない専門的立場から転写機構にアプローチする課題等である。第 2 の役割は若手支援であり、若手研究者による萌芽的研究を積極的に支援していく。これらを踏まえて H25 年度に 18 件の公募研究を採択した。当初採択した者のうち大川恭行（九州大学・医学研究院）と齊藤典子（熊本大学・発生医学研究所）が別の新学術領域の計画班員として採択されたため、2 人には班友という形で残ってもらい、2 名の公募班員を補充した。

研究組織間の連携状況

本領域は以上のような体制を敷いているので、計画研究でゲノムワイド解析を担う松本班、1 分子解析を担う十川班、計算科学と情報科学を担う中村班を中心に、組織内で多数の共同研究や連携が進行している。

【十川班を中心とした連携状況】

以下の共同研究を実施中または実施予定であり、他にも相談中の案件がいくつかある。

- ・山口雄輝（計画研究代表者）との共同研究：転写伸長因子 NELF の 1 分子イメージング解析。
- ・高橋陽介（計画研究代表者）との共同研究：植物の転写複合体構成因子の相互作用のイメージング解析。
- ・原田昌彦（公募班員）との共同研究：クロマチンリモデリング複合体 INO80 ならびに細胞核内のアクチンファミリータンパク質の 1 分子イメージング解析。
- ・ティモシースタセビッチ（公募班員）との共同研究：転写伸長中の RNA ポリメラーゼ II の動態解析。
- ・齊藤典子（公募班員→班友）との共同研究：核スペックルにおける RNA ポリメラーゼ II の動態解析。

【松本班を中心とした連携状況】

- ・田村智彦（計画研究分担者）との共同研究：転写因子 IRF8 が単球分化を誘導する際の、ゲノムワイドでの IRF8 の結合ならびにヒストンの各種翻訳後修飾状態を ChIP-seq 解析によって明らかにしている。
- ・緒方一博（計画研究代表者）との共同研究：松本は緒方と密に連携し、ヒト疾患の原因として同定された特にミスセンス変異について結晶構造解析データを基に、自由エネルギーや構造学的特徴を加味した病的インパクトの推定を進めている。本領域発足以降、クロマチンリモデリング複合体 BAF の変異による Coffin-Siris 症候群 (*Nature Genet* 2012)、*GNAO1* 変異によるてんかん性脳症 (*Am J Hum Genet* 2013)、*KLHL40* 変異によるネマリンミオパチー (*Am J Hum Genet* 2013)、*UQCR2* 変異による新生児発症代謝破綻症 (*Hum Mut* 2013)、*KDM6A* 変異による歌舞伎症候群 (*Hum Mut* 2013)、*KLHL41* 変異によるネマリンミオパチー (*Am J Hum Genet* 2014)、*GYG2* 変異による Leigh 脳症 (*Hum Genet* 2014)、*SOX11* 変異による Coffin-Siris 症候群 (*Nature Commun* 2014) などの解析で共同研究を行ってきた。疾患ゲノム解析から思いがけない変異が見つかることが多々ある。構造生物学的なアプローチを組み合わせることで病的意義が明確になることが多く、異なる専門性の研究者が取り組むメリットが極めて大きい。
- ・高橋陽介（計画研究代表者）との共同研究：植物ホルモンによる転写制御機構の次世代シーケンサーを用いた解析について助言を行っている。

【中村班を中心とした連携状況】

- ・緒方一博（計画研究代表者）との共同研究：研究代表者の中村は、主要な転写因子のひとつである Ets1 を対象とした転写因子-制御エレメント複合体形成メカニズムの原子レベルからの解析を実施している。
- ・田村智彦（計画研究分担者）との共同研究：研究分担者の藤井は、エピゲノムの情報修飾に依存したヌクレオソームによる情報変換機構の解析を行なっている。
- ・山口雄輝（計画研究代表者）との共同研究：研究分担者の藤井は、shRNA ライブラリースクリーニングによって得られるデータの新たな評価法の開発を行なっている。
- ・十川久美子（計画研究代表者）との共同研究：研究代表者の中村は、1 分子イメージングによって得られる Pol II 複合体の構造と動態とを、分子モデリングとシミュレーション計算によってスケールを超えて結び、

転写サイクルにおけるダイナミクスを解明する予定である。

- ・高橋陽介（計画研究代表者）との共同研究：研究分担者の藤井は、高橋が実施する植物の転写複合体構成因子の ChIP-seq 解析のデータ解析を支援する予定である。
- ・平田章（公募班員）との共同研究：研究代表者の中村は、彼らが最近決定した *Thermococcus kodakarensis* 由来の RNA ポリメラーゼ (*Tko* RNAP) の未発表構造に対する MD 計算を実施している。
- ・米澤康滋（公募班員）との共同研究：研究分担者の藤井は、マルチカノニカル計算手法による Pol II C 末端ドメイン (CTD) のリン酸化効果の解析において米澤を支援している。
- ・高田彰二（公募班員）との共同研究：研究代表者の中村は、p53 の不規則構造について、疎視化モデルのための有効ポテンシャル関数を全原子モデルによるマルチカノニカル計算によって得る手法について支援している。

【その他の連携状況（一部）】

- ・公募班員の藤井穂高は、細胞核内の特定の遺伝子座に結合するタンパク質複合体を単離・同定する技術の開発を行っており、H25 年度に engineered DNA-binding molecule-mediated ChIP (enChIP) 法を発表した。現在、enChIP 法を行うための試料の頒布やノウハウの伝達を通じて、領域に所属する研究者のゲノム機能解析を支援している。具体的には大熊芳明（計画研究分担者）、田村智彦（計画研究分担者）、和田洋一郎（公募班員）、斉藤典子（公募班員→班友）らと共同研究を実施している。
- ・公募班員の横山と高橋は、転写伸長因子「超複合体」AEP/SEC とメディエーターMED26 の関連について共同研究を行っている。
- ・公募班員の平田章は、大川恭行（公募班員→班友）との共同研究で、古細菌 *Tko* RNA ポリメラーゼの F サブユニットの破壊株の RNA-seq 解析を行った。その結果、とりわけ高温環境下で誘導される分子シャペロン遺伝子の発現量が著しく、破壊株において減少していることが定量的に確認できた。今後、F サブユニットがどのように *Tko* RNAP の転写制御を行っているのか調べる予定である。
- ・公募班員の太田力は、肺癌において転写因子 NRF2 の異常活性化が高頻度で引き起こされていること、さらに、NRF2 の転写活性化能を阻害すると肺癌細胞の増能が抑制されることを発見・報告した。そこで、NRF2 の転写活性化の分子機構を解明することを目的として、NRF2 の立体構造解析を緒方一博（計画研究代表者）と共同で行っている。

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。

応募時に設定した「研究の対象」は以下の3つである。

- ②異なる学問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。
- ④当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすもの。

設定目標に向けて、現在まで概ね順調に研究は進んでいると自己評価している。数字による裏付けとして、領域の発足から2年余で、右表のように100報を超える論文を發表することができた（ACS Nano 1報、Genome Biol 1報、JACS 2報、Molecular Cell 2報、Nature Commun 3報、Nature Genet 2報、Nature SMB 1報、Plant Cell 1報、PLoS Genet 3報等、IF>10の論文22報を含む）。特筆すべきことに、計画研究から發表された論文の約20%が、班をまたいだ共同研究により生まれてきている。

論文の件数

出版年	計画研究	公募研究	計
2012年	29(3)	—	29(3)
2013年	33(9)	21	54(9)
2014年	14(3)	14	28(3)
計	76(15)	35	111(15)

括弧内は班をまたいだ共同研究による共著論文数

その内容を精査すると、領域の設定前から築かれていた共同研究体制に基づくものが少なくない。とはいえ領域の設定後に誕生した共同研究が真に実を結ぶのはこれからである。前ページに記載したように、公募研究も巻き込んだ形で多数の共同研究が進行中であり、20%という数字は今後、高まっていくはずである。

たとえば、計画班の松本らは、遺伝子疾患を引き起こす転写・クロマチン装置の変異を、次世代シーケンサーを用いて猛烈なペースで同定しており、そこから見つかった変異——特にミスセンス変異——の機能的意義を、緒方班が構造生物学的な立場から推定するという共同研究体制によって論文が量産されている。他にも、構造生物学の分野でウェットの緒方班（X線結晶回折ならびにNMR）とドライの中村班（MD計算）の共同研究や、*in vivo*イメージングの分野でウェットの十川班（1分子イメージング）とドライの中村班（分子モデリングとシミュレーション計算）の共同研究など、融合的なプロジェクトが進行中である。

先端的技術の普及・供与を目的として領域内共同利用システムを立ち上げ、運用している。国内でいまだ立ち後れている感のある次世代シーケンサーを用いたゲノムワイド研究の推進に努めているほか、X線構造解析と1分子観察用の装置をもそれぞれ管理担当班員の研究室に導入し、領域内で利用できるようにしている。また、公募班の藤井穂高は、細胞核内の特定の遺伝子座に結合するタンパク質複合体を単離・同定する技術（iChIP法やenChIP法）を世界に先駆け開発している。これはDNA上の反応を研究する者にとって長年の悲願とも言える技術的進歩である。この技術が十分にパワフルであることが予備実験から示されたので、現在その普及に努めている。

以上の理由から、研究の対象②、③、④に沿って着実に進んでいると自己評価している。

計画研究1「Pol IIの転写伸長・終結・リサイクル過程におけるチェックポイント制御機構の解明」

研究代表者：山口雄輝（東工大）、研究分担者：田村智彦（横浜市大）、川内潤也（東京医科歯科大）

本計画班は本領域における転写機構研究の中核となって本領域全体のテーマでもある先端的計測技術の開発・導入を行ないつつ、転写制御機構の根底にある新概念・共通原理の解明を進めていく。具体的には、Pol II C末端ドメイン（CTD）のリン酸化や転写伸長因子、転写終結因子、RNAプロセシング因子、クロマチン因子等が協調的に働いて転写開始後の過程を制御する機構ならびにその生理学的意義を明らかにする。また、松本班や中村班と共同でChIP-seqやRNA-seqなどのゲノムワイド解析を行ない、チェックポイント制御機構の一般則を導く。しかしChIPはいわばスナップショットであり、Pol IIや転写伸長因子等のDNA上での「動き」を正確に捉えることはできないので、十川班と共同で1分子生細胞イメージングを実施するほか、Pol II等のDNA上でのダイナミクスを解析可能な新たな実験法の開発も並行して進め、転写サイクルの動的知見を得ることを目標とする。

領域の発足以来、本計画班からCell Reports 3報、Nature Commun 2報、EMBO J 1報を含む原著論文25報、総説1報を公表することができ、研究は概ね順調に進んでいると自己評価している。当初の予想を超えて進んでいる点として、組織内の協力や共同研究の進展がある（研究の対象②③）。一方、やや遅れている

点として、ダイナミクスを解析可能な新規実験法の開発がある（研究の対象③④）。当初提案した方法ではうまくいかなかったので、別の方法による目標達成を目指している。

計画研究 2 「遺伝子転写再構築系による転写サイクル制御機構の解明」

研究代表者：伊藤敬（長崎大）、研究分担者：大熊芳明（富山大）

遺伝子転写再構築系により転写サイクルによる遺伝子転写開始機構を明らかにする。特にヒストンの翻訳後修飾とクロマチン構造の役割を解明することによって、生体内での転写サイクルと生命現象との接点を探る。具体的には研究期間内に、(1) ヒストン H2A 脱ユビキチン化とヒストン H3K4 メチル化のクロストークの機構を明らかにする。(2) ヒストン H3K4 メチル化による遺伝子転写開始制御機構を明らかにする。(3) 転写活性化の際の転写とエピゲノムのクロストークを解析する目的で、クロマチンリモデリング SWI/SNF 型複合体とメディエーターの協調機構を解明する。(4) NHK-1 と USP21 のノックアウトマウスを作製、解析する。(5) ヒストン翻訳後修飾を模倣した変異ヒストンを導入した遺伝子改変マウスを作製し、その影響を調べる。

これまでに、試験管内クロマチン再構成系を用いて、ヒストン H2A ユビキチン化がヒストン H3K4 メチル化を抑制することや、ヒストン H2A C 末端のユビキチン化とリン酸化が相互に抑制し合うことを明らかにした。さらに、H2A 脱ユビキチン化酵素 USP21LV には短いバリエーション USP21SV が存在し、両者が機能的に異なることを明らかにした(*PLoS One* 2013)。また、NIH3T3 細胞にヒストン H2A の C 末端リン酸化を模倣する変異 T120D を導入すると細胞がトランスフォームし、この細胞はヌードマウスで腫瘍形成能もあつたことから、ヒストンの翻訳後修飾異常が癌化を引き起こしうることが分かった（投稿中）。SWI/SNF 型複合体に関しては、CDK8 と CDK19 が相互作用するタンパク質の検索を、酵母 2 ハイブリッド法と LC-MS 法により行い、Brg1、Suz12、Bcl6、PRMT5、WDR77 を同定した。Brg1、Suz12、Bcl6 は共にメディエーター複合体の CDK8 と CDK19 の N 末側のセリン/スレオニンキナーゼ領域と結合した (*J Biochem* 2012)。さらに、メディエーター複合体の Cdk-Cyclin コンポーネントの新規相互作用因子としてヒストンアルギニンメチル化酵素 PRMT5 と WD リピートタンパク質 WDR7/MEP50 を同定し、それらが免疫・炎症応答性遺伝子の発現抑制に寄与していることを見出した (*J Biol Chem* 2013)。

計画研究 3 「植物の成長制御エンハンソームの解析」

研究代表者：高橋陽介（広島大）

環境変化に適応し太陽光の捕捉効率を最適化するために、植物は遺伝的プログラムを柔軟に変化させる機構を発達させてきた。ジベレリン (GA) は植物の成長を促進するホルモンである。GA 信号伝達の抑制因子として同定された DELLA は、複数の情報伝達経路のノードであり、植物の成長抑制因子である。GA などの刺激を受けると DELLA は分解され植物は成長する。これまで DELLA の生化学的な機能は不明であつたが、我々は DELLA が転写のコアクティベーターであることを明らかにした。本研究計画では信号伝達のクロストークの分子実体を、転写因子を中心とするタンパク質複合体の離合・再構成と捉え、複合体の構成要素の転写サイクルにおける機能と共有結合性修飾の動態解析を目的とする。十川班と共同で生細胞における転写因子間の相互作用を解析する。さらに松本班や中村班と共同でゲノムワイド解析を実施し植物の成長を制御する未知の遺伝子を同定する。これらの研究は食糧・バイオマス産生促進のための基盤技術創出への大きな貢献となる。

領域の発足以降、GA が DELLA を含む転写促進複合体を転写抑制複合体に機能変換するメカニズムの解明に成功した (*Plant Cell, in press*)。また転写複合体中の転写因子 RSG をリン酸化するキナーゼ NtCDPK1 の解析過程で、このキナーゼがタンパク質リン酸化酵素の活性だけでなくスキャフォールド機能を有することを見出した (*Plant Physiol, in press*)。成長制御エンハンソームの構成因子 SPY が GlcNAc 化酵素として転写複合体の機能を制御することを見出した。さらに松本班の支援を受け成長制御エンハンソームの標的遺伝子をゲノムレベルで解析し、これまでに知られていない未知の GA の信号伝達・転写制御系の存在を示す結果を得ており（研究の対象②）、研究は概ね順調に進展している。

計画研究 4 「静的・動的分子構造解析を基盤とした転写サイクル制御機構研究」

研究代表者：緒方一博（横浜市大）

転写サイクルは、細胞内外の環境変化に応じて伝達されるシグナルによって精緻に制御されていることが想定される。この制御において中心的役割を果たすのが標的遺伝子のエンハンサー上に形成される転写因子高次会合体エンハンソームとその化学修飾である。本研究では、X線回折実験、核磁気共鳴 (NMR) 法などの分子構造解析を基盤とし、さらに領域内の計算科学グループとも共同して、転写因子の高次複合体の視点から転

写開始の制御機構を解析する。具体的には、転写因子の化学修飾が、エンハンソーム形成に与える影響を生化学的に解析し、中村らの計算科学や松本らのゲノムワイド研究と共同し、エンハンサー上での多様な転写因子の動的な離合集散過程の分子構造基盤を確立することを目指している。

これまでに我々は、細胞シグナルカスケードが化学修飾を介して転写因子を一律に活性化や不活性化するのではなく標的遺伝子の「絞り込み」を行っていること、さらに、この現象に底流する分子機構がパートナー転写因子による DNA を介したアロステリック制御であることを見出した (*J Mol Biol, in press*)。一方で中村班と連携し、DNA を含む高次複合体の MD シミュレーションを可能にする新たな方法論の開発に取り組み (中村班による発表準備中)、この方法を高次の転写因子-DNA 複合体に適用することにより、実験的には不可能だった動的解析を進めている (研究の対象②③)。松本班との共同研究では、疾患遺伝学と分子構造解析との研究融合が達成され、多くの成果が上がっている (研究の対象②③)。この研究成果発表は領域内にとどまらず、ハーバード大、西オーストラリア大、理化学研究所の遺伝学グループとの新たな共同研究へとつながり (e.g., *KLHL40* 変異によるネマリンミオパチー (*Am J Hum Genet* 2013))、当初想定していなかった波及効果をもたらしている (研究の対象④)。

計画研究 5 「生細胞核の複数種蛍光 1 分子イメージング定量解析による転写サイクルの機構解明」

研究代表者：十川久美子 (東工大)

本計画班は 1 分子イメージング定量解析による「高精細アプローチ」を進め、転写サイクルに関する種々の複合体のダイナミクス解析を通して、転写サイクルの機構解明をすすめる。1 分子イメージング観察と定量解析では、平均化されていない個々の分子ダイナミクスに注目することにより、生化学的解析と相補する知見が得られる。核内の局所照明により蛍光 1 分子を鮮明に観察できる独自開発の顕微鏡技術を中心に、FRAP 法や超解像顕微鏡法との統合顕微鏡システムを開発する。複数種 1 分子同時観察により各種複合体構成タンパク質の動態を計量する。核内における分子数・濃度・相互作用時間・解離定数・拡散係数・物理的動態特性というパラメータを、時間・空間・複数種分子の 5 次元の関数として求める。これらの解析により、転写開始前複合体や転写伸長複合体について、どのような因子がどのタイミングで関与するかというダイナミクス解明を目標とする。

領域発足以来、1 分子イメージング定量解析システムとしての顕微鏡観察、解析ソフトウェアの開発整備だけでなく、多色同時 1 分子イメージングのための細胞サンプル構築技術をも提供すべく開発、実用化してきている。これまで 1 分子イメージングが困難だった転写伸長因子 NELF や、種々のヒストンについても、蛍光標識のコントロールにより 1 分子イメージングを可能にした。技術開発の観点では概ね順調に進んでいると考えている。最近の成果として分裂酵母の核膜孔複合体構成タンパク質の分子数解析を行い、薄層斜光照明法による 1 分子定量解析の威力を発揮した (*Nucleus* 2014)。当初の予想を超えて、数多くの領域内研究者との共同研究が立ち上がり、進行している。RNA ポリメラーゼ II を中心に、転写調節因子群の解析、クロマチンリモデリング複合体 INO80 構成タンパク質のダイナミクス解析など、複数のプロジェクトを並行してすすめている。現在 1 分子顕微鏡はフル稼働であり、種々の観察データが蓄積してきている。得られた結果を共同研究者とディスカッションし、さらに観察解析に反映させるという期待通りの展開になっている。多量の画像データを解析していくためには、解析の自動化をさらに進める必要があり、強いて言えば、自動化がやや遅れていると考えている。現有の解析システムの改良と市販の解析ソフトを組み合わせることにより解決し、目標を達成する。

計画研究 6 「大量並行シーケンスによるゲノムアッセイ」

研究代表者：松本直通 (横浜市大)、研究分担者：三宅紀子 (横浜市大)

現有の次世代シーケンサー (NGS) Illumina 社 Genome Analyzer IIx (GAIIx) および HiSeq2000、Life Technologies 社 Ion PGM に加えて Life Technologies 社 Ion Proton を新たに導入し、網羅的なゲノムアッセイを行う。Ion Proton のシーケンス産出量は 10Gb 程度であるが、HiSeq (1 ランに 1~2 週間程度、100~200 万円を要する) と比較して迅速かつ低コストに解析でき、従来の NGS の弱点を克服することが期待される。種々の NGS を駆使して機能的ゲノムアッセイを強力に推進・サポートし、転写サイクルに関連する新しい生命現象のメカニズム解明の糸口を提供する。これと並行して網羅的にヒト疾患ゲノム解析を行い原因遺伝子を解明し、転写サイクル因子に関わる遺伝子異常で惹起される疾患分子基盤を明らかにする。

導入した Ion Proton は 2013 年に発売予定だった大容量の PII チップの発売が遅延したため、まず Ion Proton と同じ原理の半導体シーケンサー Ion PGM を用いて、そのシーケンス特性を、合成シーケンス技術を用いる Mi-Seq シーケンサーと比較検討した。Ion PGM の最新のリード長は 400bp であり、リードの正確な

マッピングは問題なく行なえた。ChIP-seq プロトコールとインフォマティクス解析については、田村智彦（山口班 研究分担者）と共同で進め、ゲノムワイドでの IRF8 の結合ならびにヒストンの各種翻訳後修飾を ChIP-seq 解析によって明らかにした (*Blood* 2013)。次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析系のセットアップも進めている。当班では並行して、転写・クロマチン装置の遺伝子異常が引き起こす疾患の責任遺伝子探索と分子病理の解析も行っており、たとえば Coffin-Siris 症候群の原因が *SMARCB1*、*SMARCA4*、*SMARCE1*、*ARID1A*、*ARID1B* のいずれかの遺伝子変異によって惹起されていることを突き止めた (*Nature Genet* 2012)。これらの遺伝子はクロマチンリモデリング複合体 BAF のサブユニットをコードしている。さらに、Coffin-Siris 症候群の症例を解析していくと転写因子 SOX11 の変異が 2 例で見つかり、SOX11 が BAF 複合体ネットワークの下流で、神経細胞の分化制御などに重要な役割を果たしていることが分かった (*Nature Commun* 2014)。当班は緒方班と密に連携し、ヒト疾患の原因として同定された変異について結晶構造解析データを基に、自由エネルギー変化や構造学的特徴を加味した病的インパクトの推定を進めている。

計画研究 7 「計算・情報科学による転写サイクルにおける情報変換機構の解明」

研究代表者：中村春木（阪大）、研究分担者：皿井明倫（九工大）→ 藤井聡（九工大）

転写サイクルを制御するシステムは、外部からのシグナルなどの入力情報を処理し遺伝子発現などを出力とする複数の情報変換システムが共役して進行する複雑な系である。本計画班員が開発済の最先端の計算科学技術を応用し、構造生物学の班員によって解析された複合体分子構造をもとに、マイクロ秒以上の長時間にわたる分子動力学計算や詳細な量子化学計算による電子・原子レベルの動的状態を解明する一方、ゲノム解析の班員によって解析された巨大データをもとに、高度なバイオインフォマティクス解析を行う。これら計算・情報の 2 つのアプローチを合わせて転写サイクルのメカニズムを解明することが、本計画研究班の目標である。

従来の周期境界条件に基づく分子動力学計算 (MD) 手法 (Ewald 法) は転写サイクルを制御するシステムのように巨大な系に対しては必ずしもリアルな描像を与えないため、領域の発足以来、精度よく静電相互作用を高速で算出できる非 Ewald 法である Zero-Multipole summation 法の新規アルゴリズムを中村は開発し、*J Chem Phys* に 4 報、*Chem Phys Lett*、*PLoS One*、*Chem Phys Lett*、*J Chem Theory Comput* にそれぞれ 1 報の原著論文を公表した。この新規アルゴリズムは応募時に開発中であったが、実際のタンパク質や DNA への応用については未確定のことも多かった。本研究により、GPU システム用のプログラム開発も含めて、DNA を含む超分子複合体に対しても高精度で高速な MD 計算の実施が確立された。さらに、計画班員の緒方との共同研究により、主要な転写因子のひとつである Ets1 を対象とした転写因子-制御エレメント複合体形成メカニズムの原子レベルからの解析を実施した。特に、エンハンソームの超分子複体内のダイナミックな原子間の相互作用に関する解析法に関して、応募時には未開発であったグラフ理論による高精度の解析法を構築し適用した結果、Ets1 二量体-DNA 複合体では、従来の解析では捉えられなかった、熱ゆらぎの中で過渡的に相互作用の相手を切り替えながら他の分子と接している残基が特定できた。さらに様々な系での比較から、DNA 制御エレメントの配列やパートナー転写因子が入れ替わっても基本的な相関ネットワークは保存されていることが分かった。今後、新たな変異体の機能解析等の生化学実験の結果と比較検討する。さらに、Ets1 における ETS ドメイン上流のリン酸化が与える転写制御への影響を調べるため、不規則構造となる Gln278 から Asp317 の 40 残基について自由エネルギー地形の解析を実施中である。

藤井は中村班の分担者として転写制御ロジックの情報科学的アプローチによる解析を主に担当している。転写制御ロジックにおける重要なメカニズムを解明するために、(1) 制御領域での転写因子の協同性やモジュール構造の解析、(2) エピゲノムの情報修飾に依存したヌクレオソームによる情報制御機構の解明、(3) 転写制御ネットワークと情報変換の階層構造の解析、の 3 つをテーマに挙げて研究を進めている。現在 (1) に関しては研究領域外ではあるが実験の研究者との共同研究で進めており、(2) に関しては計画班員である田村智彦との共同研究により、進めている。(3) に関しては、現在はまだ公開されているデータを使った試行を行っている段階である。今後は、これら 3 つの転写制御に関係するテーマを複合した解析を進めていく。この研究では、異なる学問分野の研究者と連携して行う共同研究を推進して、当該研究領域の発展を目指している。また、同時に実験データの解析の支援という形で、他の班員により産出される膨大な実験データに対する計算科学・情報科学的解析手法の開発と支援も行っている。ChIP-seq や RNA-seq などの次世代シーケンサーのデータ処理法の検討、ChIP-seq、RNA-seq、マイクロアレイのデータを複合的に取り扱う解析法の開発、新規生物学的手法に対する解析法の開発を行っている。開発済ならびに開発中の手法は他分野でも適用可能であり、他の研究領域の研究の発展にも大きな波及効果をもたらすと考えられる (研究の対象④)。

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。

総括班が主体となって、若手育成に関する以下の取り組みを行なっている。

トレーニングワークショップ（TWS）の開催

革新的な技術をいち早く導入し、従来の方法では解析不能な対象に挑むためには、その技術の原理を理解する必要がある。しかしバイオインフォマティクスや計算科学などは多くのウェット系研究者にはなじみが薄い。異分野融合を果たすため、領域内の若手研究者を対象に TWS を実施している。これまでに「1 分子イメージング」（計画研究代表者の十川がオーガナイズ）と「ChIP-seq データ解析」（計画研究分担者の藤井がオーガナイズ）という 2 つの TWS を行なった。いずれも実技や演習に多くの時間が割かれ、よく練られた講習内容だったと参加者から好評だった。

若手研究者の研究発表のサポート

班会議での発表は PI が中心となるので、班会議とは別に若手主体の「冬の若手ワークショップ」を年 1 回開催し、大学院生から助教クラスを中心に口頭発表とポスター発表のプログラムを編成している。「冬の若手ワークショップ」は班という枠を超えて国内の転写・クロマチン研究者の情報交換の場とすべく、転写研究会ならびに新学術「転写代謝」領域との共催で実施しているもので、持ち回りで運営を担当している。

また、領域内の若手研究者に対する「若手海外派遣」を行なっている。これは、若手研究者が海外の学会に参加し発表するための海外旅費と学会参加費を、領域内公募を経て毎年 4 名程度まで総括班経費からサポートするものである。

公募班員の選考にあたっては、若手であることをプラス要素とした。その結果、平田章（愛媛大・理工学研究科・助教）、村野健作（筑波大・医学医療系・研究員）、ティモシースタセビッチ（阪大・大学院生命機能研究科・研究員）といった優秀な 30 代の研究者を採択することができた。採択後、平田は愛媛大の講師に、村野は筑波大の助教にそれぞれ昇進した。彼らが独立した研究者として今後さらに飛躍していくために、公募班の研究費は有効に使われることだろう。一方、スタセビッチは Colorado State University, Department of Biochemistry & Molecular Biology の Assistant Professor としての採用が決まり、H26 年度は公募班から離脱することになった。離脱は残念だが、独立したポジションが得られたことは喜ばしい。

計画班員では松本班の研究分担者である三宅紀子（横浜市大・医学研究科・准教授）、中村班の研究分担者である藤井聡（九州工大・情報工学研究院・助教）、そして領域代表者の山口自身も若手研究者である。山口は領域の採択時、東工大の准教授だったが、東工大の教授に昇進した。また、三宅紀子は H26 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞を受賞した。

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。

本領域では計画研究代表者、同分担者、公募班員それぞれの間でなるべく凹凸が出ないように公平に研究費を配分している。また、総括班に予備費的なものはつけず、各研究者への配分額が多くなるよう努めている。領域全体の予算執行がミスや滞りなく行なえるよう、総括班の予算で領域代表者の山口が所属する東工大で週3日勤務する事務補佐員1名を雇用している。

領域内共同利用システム

先端的技術を開発・導入することは本領域の核心であり、その媒体となるのは領域内共同利用システムである。同システムを構築するため、初年度にあたる H24 年度に以下の装置——構造解析用装置、次世代シーケンサー、1分子蛍光顕微鏡——を総括班の予算で導入した。

- 生体分子 X 線解析システム R-AXIS VII/VariMax HF 一式 27,877,500 円、設置場所：横浜市大（緒方班）
- Life Technologies Ion Proton シーケンサー 一式 18,699,975 円、設置場所：横浜市大（松本班）
- オリンパス 電動倒立型 2 ポート 蛍光顕微鏡システム、および、浜松ホトニクス 背面照射型電子増倍カメラシステム 一式 8,999,917 円、設置場所：東工大（十川班）

それぞれの技術に精通している計画班の緒方、松本、十川が各装置の管理責任者となって H24 年度内に装置の立ち上げを行なった。H25 年度には領域内共同利用システムの運用ルールを策定し、同システムの運用を開始した。運用は、1分子蛍光顕微鏡と構造解析用装置に関しては、技術的困難さに鑑み、担当研究室との共同研究ベースで装置利用を進めることとした。現在までに1分子蛍光顕微鏡と構造解析用装置、それぞれ数件の共同研究が進行中であり、相談中の案件も多数ある。

次世代シーケンサーは、H24 年度に発売されたばかりの Ion Proton を導入した。ChIP-seq や RNA-seq 等のサンプルを小規模に解析するには最適（価格やスピード面）と判断して同機種を選定し、希望研究室が待ち時間なく自由に利用できるようにした。Ion Proton 対応の ChIP-seq キットや新バージョンの chip の発売が遅れたり、同機種に関するノウハウの蓄積がないため利用が遅れていたが、ようやく最近になって利用が始まった。ノウハウを広め、利用率を高めていくのが今後の課題である。

組織運営や若手支援活動等

総括班では他に、全体班会議（年1回）の開催費用ならびにアドバイザーや学術調査官の旅費、冬の若手ワークショップ（年1回）の開催費用、トレーニングワークショップ（不定期）の開催費用、国際シンポジウム（H26年度とH28年度に予定）の開催費用と外国人講演者の旅費、「若手海外派遣」活動の費用等を計上している。

各計画研究

各計画研究でみると、ポストドクや研究補佐員の人件費の他、次世代シーケンス等の新しい実験手法に係る装置やキット類（たとえばミリテニーバイオテク自動組織分散破碎装置・H24年度、マイクロチップ電気泳動装置・H25年度、いずれも山口班）が金額ベースで大きい。

ドライ系の中村班では超分子複合体の MD 計算を行うため、GPU サーバと PC クラスタ（64 コアのインテル Xeon）を H24 年度に購入した。GPU サーバには計 8 台の GPGPU を搭載しており、これによる並列計算を高速に実施できる（溶媒分子を含めて約 16 万原子の Ets1-Runx1-CBF β -DNA 複合体の系に対して 1.8 ns/day の計算が可能）。この装置により、MD 計算を極めて迅速に行うことができた。

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。

以下の4名の先生方に、研究に直接関わらない総括班の研究協力者となっていただいております。班会議等にお越しただいてアドバイスをいただいている。

- ・石井 俊輔（理化学研究所・上席研究員、専門：分子遺伝学）
- ・田中亀代次（大阪大学・教授、専門：細胞遺伝学、分子遺伝学）
- ・塩見 春彦（慶応義塾大学・教授、専門：分子生物学）
- ・佐藤 文俊（東京大学・教授、専門：計算生体分子科学）

以下に、研究協力者からのコメントを付す。

●石井俊輔先生からのコメント

「P o l 2の転写伸長・終結・リサイクル過程におけるチェックポイント制御機構」詳細が着実に論文としてまとめられつつある。また本領域の研究により Coffin-Siris 症候群の原因として、クロマチンリモデリング複合体 BAF を構成する5つのサブユニットの遺伝子変異（点変異）が特定されたことは、基礎的な転写制御機構の理解が疾患の発症メカニズムの理解に繋がることを如実に示している。7つの計画研究グループ間で共同研究が積極的に行われつつあることが伺え、今後のレベルの高い研究成果に結びつくことを期待している。

●田中亀代次先生からのコメント

班員間の連携が十分に行われ、すでに幾つか論文としてその研究成果が発表されている。とりわけ、松本直通、緒方一博班員を中心とした共同研究によって、Coffin-Siris 症候群がクロマチンリモデリング因子 BAF 複合体や転写因子 SOX11 の変異によって引き起こされることを発見するなど、多くの成果が得られていることは特筆すべき成果である。

●塩見春彦先生からのコメント

転写研究に転写サイクルという新規概念を導入し、高精細アプローチによって、これまで独立に進められてきた転写の各ステップの研究を統合し、転写制御の全体像を定量的に解き明かそうという遺伝子発現制御機構の根幹に光をあてる夢のある、かつ極めて重要な研究である。この間、順調に研究が進展し、全体として期待どおりの成果が出てきている。また、共同研究を含む班員間の様々な交流が積極的に行われ、新しい研究分野の開拓が試みられている。

一方で、計画班員の中に論文がほとんど出ていない人がいることも事実であり、今後の積極的な成果発信に期待するものである。

●佐藤文俊先生からのコメント

本研究領域は、転写機構モデルを刷新し、これを統一的・定量的に理解するために組織された階層横断型研究である。計7つの計画研究課題を1つの研究項目の推進に集約させた意欲的な研究体制を高く評価する。

個別計画研究課題のみならず、当初から図られていた課題間の連携共同研究も成果が出ており、概ね順当に

進んでいる。また、トレーニングワークショップは良いアイデアであり、本研究領域を超えて展開されることを希望する。

各計画研究課題連携を個別的にみると、研究が進行するまでは致し方ないことではあるが、現状では1対1の形態が多く、結線に偏りも見受けられる。今後の期待として、負荷の高い計画研究を強化しつつ、"分子解析"、"ゲノム解析"、"個体・細胞科学"、"情報・計算科学"が複合的かつ密に連携して明らかにした研究成果・視点を基に、新たな転写機構モデルの教科書を書き上げていただきたい。

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、現在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。

<計画研究>

●DSIF and NELF interact with Integrator to specify the correct post-transcriptional fate of snRNA genes. Yamamoto J, Hagiwara Y, Chiba K, Isobe T, Narita T, Handa H, *Yamaguchi Y, *Nature Commun*, in press.

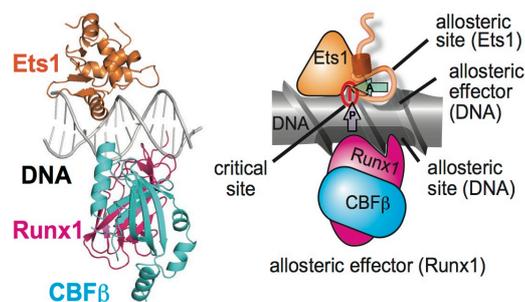
Pol II 転写産物に起こる 3 種類の 3' 末端プロセッシング経路——大部分の mRNA に起こるポリ(A)付加、ヒストン mRNA 特異的なプロセッシング、snRNA 特異的なプロセッシング——に注目し、特定の経路が選択されるしくみを研究した。snRNA は本来ポリ(A)付加を受けないが、転写伸長因子 NELF をノックダウンしたり Pol II CTD のリン酸化を阻害するとポリ(A)型の snRNA が生じ、プロセッシング経路が転写伸長の途上で active に選択されていることが明らかとなった。さらに詳しい解析から、NELF はポリ(A)付加因子 CstF のリクルートを妨げており、プロセッシング経路の“運命決定因子”として働いていることが分かった。

●A novel function of DELLA as coactivator of GAF1 in regulating GA homeostasis and signaling in Arabidopsis. Fukazawa J, Teramura H, Murakoshi S, Nasuno K, Nishida N, Ito T, Yoshida M, Kamiya Y, Yamaguchi S, *Takahashi Y, *Plant Cell*, in press.

従来の転写制御のモデルでは、ジベレリン (GA) による転写抑制しか説明できないが、実際、GA は一群の遺伝子の転写活性化を導く。高橋らは DELLA が GA シグナル伝達のコアクティベーターとして機能することを証明し、この問題を解決した。

●A novel allosteric mechanism on protein-DNA interactions underlying the phosphorylation-dependent regulation of Ets1 target gene expressions. Shiina M, Hamada K, Inoue-Bungo T, Shimamura M, Uchiyama A, Baba S, Sato K, Yamamoto M, *Ogata K, *J Mol Biol*, in press.

細胞シグナルが転写因子のリン酸化を介して遺伝子発現プロファイルを変化させる根本的な分子機構について、Ets1 を含む転写因子-エンハンサー高次複合体を例に、分子構造レベルで高精細に解明した。



●De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome. Tsurusaki Y, Ohashi H, Phadke S, Koshimizu E, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura K-i, Kodera H, Miyatake S, Nakashima N, Saitsu H, Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, and *Matsumoto N, *Nature Commun* 5, 4011 (2014).

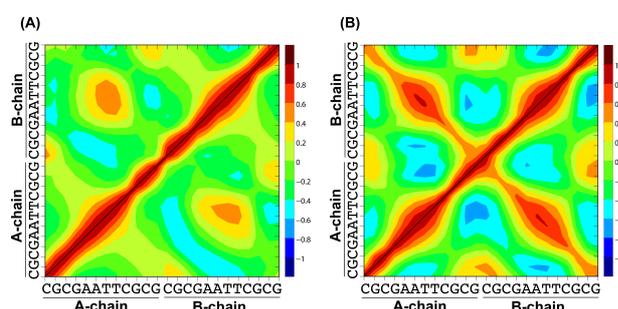
松本らは先行論文で、Coffin-Siris症候群がBAF複合体の変異によって引き起こされることを示したが、本論文では本疾患が転写因子SOX11の変異によっても引き起こされることを見出した。さらに、SOX11がBAF複合体の下流で神経細胞の分化制御などに重要な役割を果たしていることを見出した。これは計画班員の松本が責任著者、計画班員の緒方と三宅が共著者の共同研究成果である。

●Essential role of the IRF8-KLF4 transcription factor cascade in murine monocyte differentiation. Kurotaki D, Osato N, Nishiyama A, Yamamoto M, Ban T, Sato H, Nakabayashi J, Umehara M, Miyake N, Matsumoto N, Nakazawa M, Ozato K, *Tamura T, *Blood* 121, 1839-1849 (2013).

分化における細胞系譜特異的な転写制御機構と普遍的な転写サイクル制御装置の結びつきに着目し、免疫系細胞の分化をモデルとして、転写因子や各種修飾ヒストンの ChIP-seq 解析やマイクロアレイ発現解析を行なった。その結果、単球分化において遠位エンハンサーを創出する系譜特異的な転写因子 IRF8 を同定し、さらに網羅的データと *in silico* DNA モチーフ解析によって転写因子カスケード「IRF8-KLF4 軸」を予測、その実証を行ない、これが生体レベルで炎症性単球サブセットの分化に必須であることを見出した。これは計画班員の田村が責任著者、計画班員の松本と三宅が共著者の共同研究成果である。

●Molecular dynamics simulations of double-stranded DNA in an explicit solvent model with the zero-dipole summation method. Arakawa T, *Kamiya N, Nakamura H, Fukuda I, *PLoS One* 8, e76606 (2013).

水溶液中の 12 塩基対の DNA 二重鎖に対して 7 ns の MD 計算を行った。主鎖 (A) と塩基 (B) の重原子のゆらぎについ



て、Ewald 法と Zero-dipole summation 法で計算を行い、結果を比較したところ、後者は静電相互作用を近距離でカットオフして高速に計算を行えるにも関わらず、ほぼ同一の結果を与えることが分かった。

- Mediator complex recruits epigenetic regulators via its two cyclin-dependent kinase subunits to repress transcription of immune response genes. Tsutsui T, Fukasawa R, Shinmyouzu K, Nakagawa R, Tobe K, Tanaka A, *Ohkuma Y, *J Biol Chem* 288, 20955-20965 (2013).

メディエーター複合体の Cdk-Cyclin コンポーネントの新規相互作用因子としてヒストンアルギニンメチル化酵素 PRMT5 と WD リピートタンパク質 WDR7/MEP50 を同定した。Cdk-Cyclin コンポーネントはこれらの因子をリクルートすることで、一部の免疫・炎症応答性遺伝子の発現を抑制していることが示唆された。

- Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome. Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Kosho T, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kaname T, Naritomi K, Kawame H, Wakui K, Fukushima Y, Homma T, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Mizuno S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Shiina M, Ogata K, Ohta T, Niikawa N, Miyatake S, Okada I, Mizuguchi T, Doi H, Saito H, *Miyake N, Matsumoto N, *Nature Genet* 44, 376-378 (2012).

Coffin-Siris症候群の原因として、クロマチンリモデリング複合体BAFを構成する5つのサブユニット、すなわち *SMARCB1*、*SMARCA4*、*SMARCE1*、*ARID1A*、*ARID1B*のいずれかの遺伝子変異によって惹起されることを突き止めた。これは計画班員の松本が責任著者、計画班員の緒方と三宅が共著者の共同研究成果である。

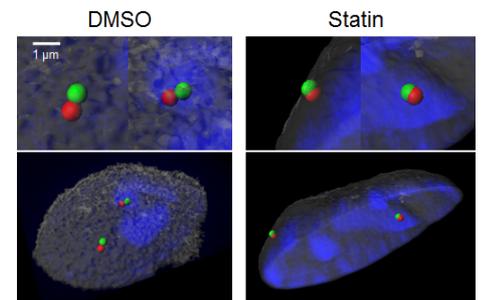
<公募研究>

- SWR1 and INO80 chromatin remodelers contribute to DNA double-strand break anchorage site choice at the nuclear periphery. Horigome C, Oma Y, Konishi T, Schmid R, Marcomini I, Hauer M, Dion V, Harata M, *Gasser SM, *Molecular Cell*, in press.

ゲノム機能の制御には核構造とクロマチンとの相互作用が関与している。本研究で、クロマチンリモデリング複合体の SWR1 と INO80 が、核膜の近傍におけるクロマチンダイナミクスに関わっていることが明らかとなった。

- Direct evidence for pitavastatin induced chromatin structure change in the KLF4 gene in endothelial cells. Maejima T, Inoue T, Kanki Y, Kohro T, Li G, Ohta Y, Kimura H, Kobayashi M, Taguchi A, Tsutsumi S, Iwanari H, Yamamoto S, Aruga H, Dong S, Stevens JF, Poh HM, Yamamoto K, Kawamura T, Mimura I, Suehiro J, Sugiyama A, Kaneki K, Shibata H, Yoshinaka Y, Doi T, Asanuma A, Tanabe S, Tanaka T, Minami T, Hamakubo T, Sakai J, Nozaki N, Aburatani H, Nangaku M, Ruan X, Tanabe H, Ruan Y, Ihara S, Endo A, Kodama T, *Wada Y, *PLoS One* 9, e96005 (2014).

KLF4 転写開始点 (赤) と 148 kb 上流のエンハンサー領域 (緑) に設計したプローブの相対的位置関係を 3D-FISH によって観察し、スタチン刺激によって KLF4 の誘導が起こる際には、二つの領域が空間的に近接している様子を単一細胞において可視化することができた。



- A time delay gene circuit is required for palp formation in the ascidian embryo. Ikeda T, Matsuoka T, *Satou Y, *Development* 140, 4703-4708 (2013).

ホヤの初期胚において、脳とプラコードの細胞の前駆細胞が分裂するまでは、Blimp 様の転写抑制因子が脳の発生プログラムを抑制していることを発見した。通常、この Blimp 様転写抑制因子は自己抑制によって一定時間後に「オフ」になり、発生は正常に進むが、この因子がないとプラコードになるべき細胞がすべて脳になってしまう。このように、自動的に切れるタイマーのような転写制御のしくみが明らかになった。

- Multiple signaling pathways coordinate to induce a threshold response in a chordate embryo. Ohta N, *Satou Y, *PLoS Genet* 9, e1003818 (2013).

神経でもっとも初期に発現が誘導される *Otx* や *Nodal* 遺伝子のエンハンサーには、BMP シグナリングによって直接抑制されるエレメントと FGF シグナリングによって直接活性化されるエレメントがあることが分かった。抑制エレメントと活性化エレメントを介したシグナルの適正なバランスによって、不適切な場所で遺伝子が発現しない仕組みになっていることが明らかとなった。

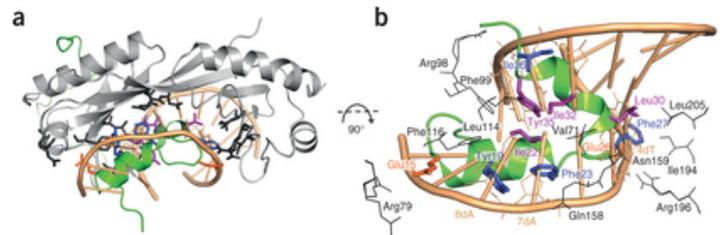
- Mediator directs co-transcriptional heterochromatin assembly by RNA interference-dependent and -independent pathways. Oya E, Kato H, Chikashige Y, Tsutsumi C, Hiraoka Y, *Murakami Y, *PLoS Genet* 9, e1003677 (2013).

村上らの過去の研究から、分裂酵母ヘテロクロマチンの形成には、当該染色体領域が Pol II によって転写されることが重要であり、また RNAi に依存的な経路と非依存的な経路があることが分かってきた。本研究で新たに、Pol II の転写開始に関わるメディエーター複合体がヘテロクロマチン形成に必須であり、RNAi に依存的な経路と非依存的な経路の両方にメディエーターが関わっていることが分かった。

- High-resolution structure of TBP with TAF1 reveals anchoring patterns in transcriptional regulation. Anandapadamanaban M, Andresen C, Helander S, Ohyama Y, Siponen MI, Lundström P, Kokubo T, Ikura M, Moche M, *Sunnerhagen M, *Nature Struct Mol Biol* 20,1008-1014 (2013).

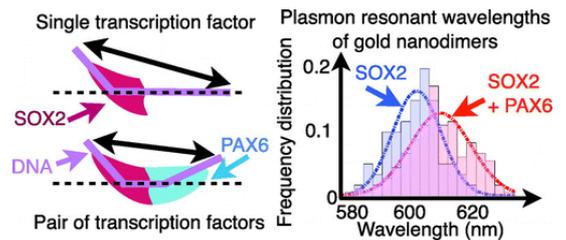
出芽酵母由来の TAND ドメインと TBP との複合体構造を明らかにした。scTAND1 は TATA ボックスを擬

態して、TBP の DNA 結合ドメインに結合するが、今回新たに TAND2 の構造が明らかとなり、TFIIIB や Mot1、TFIIA と結合する TBP 上の部位に TAND2 も結合することが分かった。



- Nano-analysis of DNA conformation changes induced by transcription factor complex binding using plasmonic nanodimers. Morimura H, Tanaka S, Ishitobi H, Mikami T, Kamachi Y, Kondoh H, *Inouye Y, *ACS Nano* 7, 10733-10740 (2013).

これまで DC5 配列を含む DNA を用いて、SOX2-PAX6 の複合体による構造変化を観察していたが、PAX6 の結合能が高い一方、転写を活性化しない DC5 コンセンサス配列 (DC5-con) についても構造変化の観察を試みた。その結果、SOX2-PAX6 の複合体との結合による DNA の構造変化は DC5 と比べて DC5-con の方が小さいことを明らかにした。このことから、DC5 は SOX2-PAX6 複合体と強く相互作用することで、転写が活性化されることが示唆された。



- Identification of telomere-associated molecules by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP). Fujita T, Asano Y, Ohtsuka J, Takada Y, Saito K, Ohki R, *Fujii H, *Sci Rep* 3, 3171 (2013).
- Efficient isolation of specific genomic regions and identification of associated proteins by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP) using CRISPR. Fujita T, *Fujii H, *Biochem Biophys Res Commun* 439, 132-136 (2013).

藤井らは、転写をはじめとするゲノム機能発現の分子機構を生化学的に解析するため、分子間相互作用を保持したまま解析対象ゲノム領域を単離するための技術として、engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP) 法を世界に先駆けて開発した。enChIP 法は、藤井らが先に開発した insertional ChIP (iChIP) 法とともに遺伝子座特異的 ChIP 法の構成技術として、転写の分子機構に大きく貢献することが期待される。

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、現在から順に発表年次をさかのぼり、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。

【主な論文】

2014年

<計画研究>

- DSIF and NELF interact with Integrator to specify the correct post-transcriptional fate of snRNA genes. Yamamoto J, Hagiwara Y, Chiba K, Isobe T, Narita T, Handa H, *Yamaguchi Y, *Nature Commun*, in press.
- A novel function of DELLA as coactivator of GAF1 in regulating GA homeostasis and signaling in Arabidopsis. Fukazawa J, Teramura H, Murakoshi S, Nasuno K, Nishida N, Ito T, Yoshida M, Kamiya Y, Yamaguchi S, *Takahashi Y, *Plant Cell*, in press.
- Scaffold function of Ca²⁺-dependent protein kinase: NtCDPK1 transfers 14-3-3 to the substrate RSG after phosphorylation. Ito T, Nakata M, Fukazawa J, Ishida S, *Takahashi Y, *Plant Physiol*, in press.
- A novel allosteric mechanism on protein-DNA interactions underlying the phosphorylation-dependent regulation of Ets1 target gene expressions. Shiina M, Hamada K, Inoue-Bungo T, Shimamura M, Uchiyama A, Baba S, Sato K, Yamamoto M, *Ogata K, *J Mol Biol*, in press.
- IRF8 is a transcriptional determinant for microglial motility. Masuda T, Nishimoto N, Tomiyama D, Matsuda T, Tozaki-Saitoh H, Tamura T, Kohsaka S, *Tsuda M, *Inoue K, *Purinergic Signal*, in press.
- Mediator MED18 subunit plays a negative role in transcription via the CDK/Cyclin module. Kumafuji M, Umemura H, Furumoto T, Fukasawa R, Tanaka A, *Ohkuma Y, *Genes Cells*, in press.
- High-resolution modeling of antibody structures by a combination of bioinformatics, expert knowledge, and molecular simulations. *Shirai H, Ikeda K, Yamashita K, Tsuchiya Y, Sarmiento J, Liang S, Morokata T, Mizuguchi K, Higo J, Standley DM, Nakamura H, *Proteins*, in press.
- Magnetically promoted rapid immunoreactions using functionalized fluorescent magnetic beads: a proof of principle. Sakamoto S, Omagari K, Kita Y, Mochizuki Y, Naito Y, Kawata S, Matsuda S, Itano O, Jinno H, Takeuchi H, Yamaguchi Y, Kitagawa Y, *Handa H, *Clin Chem* 60, 610-620.
- Transcription factor IRF5 drives P2X4R(+)-reactive microglia gating neuropathic pain. Masuda T, Iwamoto S, Yoshinaga R, Tozaki-Saitoh H, Nishiyama A, Mak TW, Tamura T, *Tsuda M, *Inoue K, *Nature Commun* 5, 3771.
- Characterization of nuclear pore complex components in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Asakawa H, Yang HJ, Yamamoto TG, Ohtsuki C, Chikashige Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Iwamoto M, *Hiraoka Y, *Haraguchi T, *Nucleus* 5, 149-162.
- A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Ogata K, Matsumoto N, *Miyake N, *Hum Genet* 133, 225-234.
- De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome. Tsurusaki Y, Koshimizu E, Ohashi H, Phadke S, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura KI, Kodera H, Miyatake S, Nakashima M, Saito H, Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, *Matsumoto N, *Nature Commun* 5, 4011.
- Expanding the phenotypic spectrum of TUBB4A-associated hypomyelinating leukoencephalopathies. Miyatake S, Osaka H, Shiina M, Sasaki M, Takanashi JI, Haginoya K, Wada T, Morimoto M, Ando N, Ikuta Y, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Ogata K, *Matsumoto N, *Saito H, *Neurology* 82, 1-8.
- The zero-multipole summation method for estimating electrostatic interactions in molecular dynamics: Analysis of the accuracy and application to liquid systems. *Fukuda I, Kamiya N, Nakamura H, *J Chem Phys* 140, 194307.

<公募研究>

- SWR1 and INO80 chromatin remodelers contribute to DNA double-strand break anchorage site choice at the nuclear periphery. Horigome C, Oma Y, Konishi T, Schmid R, Marcomini I, Hauer M, Dion V, Harata M, *Gasser SM, *Molecular Cell*, in press.
- A rare polymorphic variant of NBS1 reduces DNA repair activity and elevates chromosomal instability. Yamamoto Y, Miyamoto M, Tatsuda D, Kubo M, Nakagama H, Nakamura Y, Satoh H, Matsuda K, Watanabe T, *Ohta T, *Cancer Res*, in press.
- The TRIM-FLMN protein TRIM45 directly interacts with RACK1 and negatively regulates PKC-mediated signaling pathway. Sato T, Takahashi H, Hatakeyama S, Iguchi A, *Ariga T, *Oncogene*, in press.
- Reconstitution of human rRNA gene transcription in mouse cells by complete SL1 complex. Murano K, Okuwaki M, Momose F, Kumakur M, Ueshima S, Newbold R, *Nagata K, *J Cell Sci*, in press.
- Improvement of the transformation efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* by altering carbon sources in pre-culture. Konishi T, *Harata M, *Biosci Biotechnol Biochem*, in press.
- A novel method for purification of the endogenously expressed fission yeast Set2 complex. Suzuki S, Nagao K, Obuse C, Murakami Y, *Takahata S, *Protein Expr Purif* 97, 44-49.
- RESPAC: method to determine partial charges in coarse-grained protein model and its application to DNA-binding proteins. Terakawa T, *Takada S, *J Chem Theory Comput* 10,711-721.
- MLL fusion proteins link transcriptional coactivators to previously active CpG-rich promoters. Okuda H, Kawaguchi M, Kanai A, Matsui H, Kawamura T, Inaba T, Kitabayashi I, *Yokoyama A, *Nucleic Acids Res* 42, 4241-4256.
- Molecular dynamics study of the phosphorylation effect on the conformational states of the C-terminal domain of RNA polymerase II. *Yonezawa Y, *J Phys Chem B* 17, 4471-4478.
- Possible involvement of LKB1-AMPK signaling in non-homologous end joining. Ui A, Ogiwara H, Nakajima S, Kanno S, Watanabe R, Harata M, Okayama H, Harris CC, Yokota J, Yasui A, *Kohno T, *Oncogene* 33, 1640-1648.
- Comprehensive analysis of mutually exclusive alternative splicing in *C. elegans*. *Kuroyanagi H, Takei S, Suzuki Y, *Worm* 3, e28459.
- Direct evidence for pitavastatin induced chromatin structure change in the KLF4 gene in endothelial cells. Maejima T,

- Inoue T, Kanki Y, Kohro T, Li G, Ohta Y, Kimura H, Kobayashi M, Taguchi A, Tsutsumi S, Iwanari H, Yamamoto S, Aruga H, Dong S, Stevens JF, Poh HM, Yamamoto K, Kawamura T, Mimura I, Suehiro J, Sugiyama A, Kaneki K, Shibata H, Yoshinaka Y, Doi T, Asanuma A, Tanabe S, Tanaka T, Minami T, Hamakubo T, Sakai J, Nozaki N, Aburatani H, Nangaku M, Ruan X, Tanabe H, Ruan Y, Ihara S, Endo A, Kodama T, Wada Y, *PLoS One* 9, e96005.
- Cross-enhancement of ANGPTL4 transcription by HIF1 alpha and PPAR beta/delta is the result of the conformational proximity of two response elements. Inoue T, Kohro T, Tanaka T, Kanki Y, Li G, Poh HM, Mimura I, Kobayashi M, Taguchi A, Maejima T, Suehiro J, Sugiyama A, Kaneki K, Aruga H, Dong S, Stevens JF, Yamamoto S, Tsutsumi S, Fujita T, Ruan X, Aburatani H, Nangaku M, Ruan Y, Kodama T, Wada Y, *Genome Biol* 15, R63.
 - Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspeckle mediates IL8 expression upon immune stimuli. Imamura K, Imamachi N, Akizuki G, Kumakura M, Kawaguchi A, Nagata K, Kato A, Kawaguchi Y, Sato H, Yoneda M, Kai C, Yada T, Suzuki Y, Yamada T, Ozawa T, Kaneki K, Inoue T, Kobayashi M, Kodama T, Wada Y, Sekimizu K, Akimitsu N. *Molecular Cell* 53, 393-406.

2013年

<計画研究>

- Systematic changes to the apparent diffusion tensor of in vivo rat brain measured with an oscillating-gradient spin-echo sequence. Kershaw J, Leuze C, Aoki I, Obata T, Kanno I, Ito H, Yamaguchi Y, Handa H, *NeuroImage* 70, 10-20.
- Vitamin K2 covalently binds to Bak and induces Bak-mediated apoptosis. Karasawa S, Azuma M, Kasama T, Sakamoto S, Kabe Y, Imai T, Yamaguchi Y, Miyazawa K, Handa H, *Mol Pharmacol* 83, 613-620.
- Transcription elongation factors DSIF and NELF: promoter-proximal pausing and beyond. Yamaguchi Y, Shibata H, Handa H, *Biochimica et Biophysica Acta* 1829, 98-104. 総説
- Vesnarinone suppresses TNF α mRNA expression by inhibiting valosin-containing protein. Hotta K, Nashimoto A, Yasumura E, Suzuki M, Azuma M, Iizumi Y, Shima D, Nabeshima R, Hiramoto M, Okada A, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Ito T, Ando H, Sakamoto S, Kabe Y, Aizawa S, Imai T, Yamaguchi Y, Watanabe H, Handa H, *Mol Pharmacol* 83, 930-938.
- Viral protein-coating of magnetic nanoparticles using simian virus 40 VP1. Enomoto T, Kawano M, Fukuda H, Sawada W, Inoue T, Haw KC, Kita Y, Sakamoto S, Yamaguchi Y, Imai T, Hatakeyama M, Saito S, Sandhu A, Matsui M, Aoki I, Handa H, *J Biotechnol* 167, 8-15.
- Activation-induced cytidine deaminase auto-activates and triggers aberrant gene expression. Isobe T, Song SN, Tiwari P, Ito H, Yamaguchi Y, Yoshizaki K, *FEBS Lett* 587, 2487-2492.
- Salicylic acid induces mitochondrial injury by inhibiting ferrochelatase heme biosynthesis activity. Gupta V, Liu S, Ando H, Ishii R, Tateno S, Kaneko Y, Yugami M, Sakamoto S, Yamaguchi Y, Nureki O, Handa H, *Mol Pharmacol* 84, 824-833.
- Essential role of the IRF8-KLF4 transcription factor cascade in murine monocyte differentiation. Kurotaki D, Osato N, Nishiyama A, Yamamoto M, Ban T, Sato H, Nakabayashi J, Umehara M, Miyake N, Matsumoto N, Nakazawa M, Ozato K, Tamura T, *Blood* 121, 1839-1849.
- The transcription factor IRF8 counteracts BCR-ABL to rescue dendritic cell development in chronic myelogenous leukemia. Watanabe T, Hotta C, Koizumi S, Miyashita K, Nakabayashi J, Kurotaki D, Sato GR, Yamamoto M, Nakazawa M, Fujita H, Sakai R, Fujisawa S, Nishiyama A, Ikezawa Z, Aihara M, Ishigatsubo Y, Tamura T, *Cancer Res* 73, 6642-6653.
- WHSC1 links transcription elongation to HIRA-mediated histone H3.3 deposition. Sarai N, Nimura K, Tamura T, Kanno T, Patel MC, Heightman TD, Ura K, Ozato K, *EMBO J* 32, 2392-2406.
- BRD4 coordinates recruitment of pause release factor P-TEFb and the pausing complex NELF/DSIF to regulate transcription elongation of interferon-stimulated genes. Patel MC, Debrosse M, Smith M, Dey A, Huynh W, Sarai N, Heightman TD, Tamura T, Ozato K, *Mol Cell Biol* 33, 2497-2507.
- Egr-2 transcription factor is required for Blimp-1-mediated IL-10 production in IL-27-stimulated CD4+ T cells. Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yanai A, Sumitomo S, Shoda H, Tamura T, Yoshida H, Charnay P, Yamamoto K, *European J Immunol* 43, 1063-1073.
- Transcriptional properties of mammalian elongin A and its role in stress response. Kawauchi J, Inoue M, Fukuda M, Uchida Y, Yasukawa T, Conaway RC, Conaway JW, Aso T, Kitajima S, *J Biol Chem* 288, 24302-24315.
- The USP21 short variant (USP21SV) lacking NES, located mostly in the nucleus in vivo, activates transcription by deubiquitylating ubH2A in vitro. Okuda H, Ohdan H, Nakayama M, Koseki H, Nakagawa T, Ito T, *PLoS One* 8, e79813.
- Mediator complex recruits epigenetic regulators via its two cyclin-dependent kinase subunits to repress transcription of immune response genes. Tsutsui T, Fukasawa R, Shinmyouzu K, Nakagawa R, Tobe K, Tanaka A, Ohkuma Y, *J Biol Chem* 288, 20955-20965.
- KDM6A point mutations cause Kabuki syndrome. Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saito H, Niikawa N, Matsumoto N, *Hum Mutat* 34, 108-110.
- Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous UQCRC2 mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. Miyake N, Yano S, Sakai C, Hatakeyama H, Matsushima Y, Shiina M, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Tsurusaki Y, Doi H, Nakashima M, Saito H, Ogata K, Goto Y, Matsumoto N, *Hum Mutat* 34, 446-452.
- Exome sequencing identifies a novel INPPL1 mutation in opsismodysplasia. Iida A, Okamoto N, Miyake N, Nishimura G, Minami S, Sugimoto T, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Shiina M, Ogata K, Watanabe S, Ohashi H, Matsumoto N, Ikegawa S, *J Hum Genet* 58, 391-394.
- Whole genome sequencing in patients with retinitis pigmentosa reveals pathogenic DNA structural changes and NEK2 as a new disease gene. Nishiguchi KM, Tearle RG, Liu YP, Oh EC, Miyake N, Benaglio P, Harper S, Koskiniemi-Kuendig H, Venturini G, Sharon D, Koenekoop RK, Nakamura M, Kondo M, Ueno S, Yasuma TR, Beckmann JS, Ikegawa S, Matsumoto N, Terasaki H, Berson EL, Katsanis N, Rivolta C, *Proc Natl Acad Sci USA* 110, 16139-16144.
- Identification of KLHL41 mutations implicates BTB-Kelch-mediated ubiquitination as an alternate pathway to myofibrillar disruption in nemaline myopathy. Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar MA, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Yau KS, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJ, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH, *Am J Hum Genet* 93, 1108-1117.
- Mutations in KLHL40 are a frequent cause of severe autosomal-recessive nemaline myopathy. Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, Miyake N, Tsurusaki Y, Doi H, Saito H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, Ogata K, Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadurai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F,

- Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJ, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, *[Matsumoto N](#), *Laing NG, *Am J Hum Genet* 93, 6-18.
- De novo mutations in GNAO1, encoding a G α o subunit of heterotrimeric G proteins, cause epileptic encephalopathy. Nakamura K, Kodera H, Akita T, Shiina M, Kato M, Hoshino H, Terashima H, Osaka H, Nakamura S, Tohyama J, Kumada T, Furukawa T, Iwata S, Shiihara T, Kubota M, Miyatake S, Koshimizu E, Nishiyama K, Nakashima M, Tsurusaki Y, [Miyake N](#), Hayasaka K, [Ogata K](#), Fukuda A, *[Matsumoto N](#), *Saitu H, *Am J Hum Genet* 93, 496-505.
 - De novo mutations in the autophagy gene WDR45 cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood. *Saitu H, Nishimura T, Muramatsu K, Kodera H, Kumada S, Sugai K, Kasai-Yoshida E, Sawaura N, Nishida H, Hoshino A, Ryujin F, Yoshioka S, Nishiyama K, Kondo Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, [Miyake N](#), Arakawa H, Kato M, *Mizushima N, *[Matsumoto N](#), *Nature Genet* 45, 445-449.
 - Mutations in B3GALT6, which encodes a glycosaminoglycan linker region enzyme, cause a spectrum of skeletal and connective tissue disorders. Nakajima M, Mizumoto S, [Miyake N](#), Kogawa R, Iida A, Ito H, Kitoh H, Hirayama A, Mitsubuchi H, Miyazaki O, Kosaki R, Horikawa R, Lai A, Mendoza-Londono R, Dupuis L, Chitayat D, Howard A, Leal GF, Cavalcanti D, Tsurusaki Y, Saitu H, Watanabe S, Lausch E, Unger S, Bonafé L, Ohashi H, Superti-Furga A, [Matsumoto N](#), Sugahara K, Nishimura G, *Ikegawa S, *Am J Hum Genet* 92, 927-934.
 - Mutations in KLHL40 are a frequent cause of severe autosomal-recessive nemaline myopathy. Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, [Miyake N](#), Tsurusaki Y, Doi H, Saitu H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, [Ogata K](#), Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadurai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F, Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJ, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, *[Matsumoto N](#), *Laing NG, *Am J Hum Genet* 93, 6-18.
 - MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *[Miyake N](#), Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Yoshiura K, *[Matsumoto N](#), Niikawa N, *Am J Med Genet A* 161, 2234-2243.
 - FOXC2 mutations in familial and sporadic spinal extradural arachnoid cyst. Ogura Y, Yabuki S, Iida A, Kou I, Nakajima M, Kano H, Shiina M, Kikuchi S, Toyama Y, [Ogata K](#), Nakamura M, [Matsumoto M](#), *Ikegawa S, *PLoS One* 22, e80548.
 - A virtual-system coupled multicanonical molecular dynamics simulation: principles and applications to free-energy landscape of protein-protein interaction with an all-atom model in explicit solvent. *Higo J, Umezawa K, [Nakamura H](#), *J Chem Phys* 138, 184106.
 - LigandBox: a database for 3D structures of chemical compounds. Kawabata T, Sugihara Y, Fukunishi Y, *[Nakamura H](#), *Biophysics* 9, 113-121.
 - Exhaustive comparison and classification of ligand-binding surfaces in proteins. *Murakami Y, Kinoshita K, Kinjo AR, [Nakamura H](#), *Protein Sci* 22, 1379-1391.
 - Molecular dynamics simulations of double-stranded DNA in an explicit solvent model with the zero-dipole summation method. Arakawa T, *Kamiya N, [Nakamura H](#), Fukuda I, *PLoS One* 8, e76606.
 - Molecular Dynamics Simulations Accelerated by GPU for Biological Macromolecules with a Non-Ewald Scheme for Electrostatic Interactions. Mashimo T, Fukunishi Y, Kamiya N, Takano Y, Fukuda I, *[Nakamura H](#), *J Chem Theory Comput* 9, 5599-5609.
 - NF-E2 p45 is important for establishing normal function of platelets. Fujita R, Takayama-Tsujimoto M, Satoh H, Gutiérrez L, Aburatani H, Fujii S, Sarai A, Bresnick EH, *Yamamoto M, *Motohashi H, *Mol Cell Biol* 33, 2659-2670.
- <公衆研究>
- Nonmuscle myosin II folds into a 10S form via two portions of tail for dynamic subcellular localization. Kiboku T, Katoh T, Nakamura A, Kitamura A, Kinjo M, [Murakami Y](#), *Takahashi M, *Genes Cells* 2, 90-109.
 - Mediator directs co-transcriptional heterochromatin assembly by RNA interference-dependent and -independent pathways. Oya E, Kato H, Chikashige Y, Tsutsumi C, Hiraoka Y, *[Murakami Y](#), *PLoS Genet* 9, e1003677.
 - Spt6 prevents transcription-coupled loss of posttranslationally modified histone H3. *Kato H, Okazaki K, Iida T, Nakayama J, [Murakami Y](#), Urano T, *Sci Rep* 3, 2186.
 - Histone deacetylases govern heterochromatin in every phase. *[Murakami Y](#), *EMBO J* 32, 2301-2303. 総説
 - Multiple signaling pathways coordinate to induce a threshold response in a chordate embryo. Ohta N, *[Satou Y](#), *PLoS Genet* 9, e1003818.
 - Bayesian parameter inference by Markov chain Monte Carlo with hybrid fitness measures: theory and test in apoptosis signal transduction network. *Murakami Y, [Takada S](#), *PLoS One* 27, e74178.
 - Adenosine triphosphate hydrolysis mechanism in kinesin studied by combined quantum-mechanical/molecular-mechanical metadynamics simulations. *McGrath MJ, Kuo IF, Hayashi S, *[Takada S](#), *J Am Chem Soc* 135, 8908-8919.
 - Drug uptake pathways of multidrug transporter AcrB studied by molecular simulations and site-directed mutagenesis experiments. Yao XQ, Kimura N, Murakami S, *[Takada S](#), *J Am Chem Soc* 135, 7474-7485.
 - A time delay gene circuit is required for palp formation in the ascidian embryo. Ikeda T, Matsuoka T, *[Satou Y](#), *Development* 140, 4703-4708.
 - MLL becomes functional through intra-molecular interaction not by proteolytic processing. *[Yokoyama A](#), Ficara F, Murphy MJ, Meisel C, Hatanaka C, Kitabayashi I, Cleary ML, *PLoS One* 8, e73649.
 - Identification of telomere-associated molecules by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP). Fujita T, Asano Y, Ohtsuka J, Takada Y, Saito K, Ohki R, *[Fujii H](#), *Sci Rep* 3, 3171.
 - Efficient isolation of specific genomic regions and identification of associated proteins by engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation (enChIP) using CRISPR. Fujita T, *[Fujii H](#), *Biochem Biophys Res Commun* 439, 132-136.
 - Nano-analysis of DNA conformation changes induced by transcription factor complex binding using plasmonic nanodimers. Morimura H, Tanaka S, Ishitobi H, Mikami T, Kamachi Y, Kondoh H, *[Inouye Y](#), *ACS Nano* 7, 10733-10740.
 - Quantifying transcription factor kinetics: at work or at play? Mueller F, [Stasevich TJ](#), Mazza D, *McNally JG. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 48, 492-514.
 - Genetically encoded system to track histone modification in vivo. Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M, [Stasevich TJ](#), Horikoshi N, Kujirai T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, Obuse C, Kurumizaka H, Kawahara A, Yamagata K, Nozaki N, *Kimura H, *Sci Rep* 3, 2436.

- Convergence of chromatin binding estimates in live cells. Mazza D, Mueller F, Stasevich TJ, *McNally JG, *Nature Methods* 10, 691-692.
- High-resolution structure of TBP with TAF1 reveals anchoring patterns in transcriptional regulation. Anandapadamanaban M, Andresen C, Helander S, Ohyama Y, Siponen MI, Lundström P, Kokubo T, Ikura M, Moche M, *Sunnerhagen M, *Nature Struct Mol Biol* 20, 1008-1014.
- Macrophage migration inhibitory factor and stearoyl-CoA desaturase 1: potential prognostic markers for soft tissue sarcomas based on bioinformatics analyses. *Takahashi H, Nakayama R, Hayashi S, Nemoto T, Murase Y, Nomura K, Takahashi T, Kubo K, Marui S, Yasuhara K, Nakamura T, Sueo T, Takahashi A, Tsutsumiuchi K, Ohta T, Kawai A, Sugita S, Yamamoto S, Kobayashi T, Honda H, Yoshida T, Hasegawa T. *PLoS One* 8, e78250.
- Structural polymorphism in the L1 loop regions of human H2A.Z.1 and H2A.Z.2. Horikoshi N, Sato K, Shimada K, Arimura Y, Osakabe A, Tachiwana H, Hayashi-Takanaka Y, Iwasaki W, Kagawa W, Harata M, Kimura H, *Kurumizaka H, *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 69, 2431-2439.
- Position-dependent and neuron-specific splicing regulation by the CELF family RNA-binding protein UNC-75 in *Caenorhabditis elegans*. Kuroyanagi H, Watanabe Y, Suzuki Y, Hagiwara M, *Nucleic Acids Res* 41, 4015-4025.
- Switch-like regulation of tissue-specific alternative pre-mRNA processing patterns revealed by customized fluorescence reporters. Kuroyanagi H, *Worm* 2, e23834. 総説

2012年

<計画研究>

- Identification of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PKcs) as a novel target of bisphenol A. Ito Y, Ito T, Karasawa S, Enomoto T, Nashimoto A, Hase Y, Sakamoto S, Mimori T, Matsumoto Y, Yamaguchi Y, *Handa H, *PLoS One* 7, e50481.
- Transcriptional elongation factor elongin A regulates retinoic acid-induced gene expression during neuronal differentiation. Yasukawa T, Bhatt S, Takeuchi T, Kawauchi J, Takahashi H, Tsutsui A, Muraoka T, Inoue M, Tsuda M, Kitajima S, Conaway RC, Conaway JW, Trainor PA, *Aso T, *Cell Reports* 2, 1129-1136.
- DSIF restricts NF- κ B signaling by coordinating elongation with mRNA processing of negative feedback genes. Diamant G, Amir-Zilberstein L, Yamaguchi Y, Handa H, *Dikstein R, *Cell Reports* 2, 722-731.
- Activation of JNK triggers release of Brd4 from mitotic chromosomes and mediates protection from drug-induced mitotic stress. Nishiyama A, Dey A, Tamura T, Ko M, *Ozato K, *PLoS One* 7, e34719.
- Key role of ATF3 in p53-dependent DR5 induction upon DNA damage of human colon cancer cells. Taketani K, Kawauchi J, Tanaka-Okamoto M, Ishizaki H, Tanaka Y, Sakai T, Miyoshi J, Maehara Y, *Kitajima S, *Oncogene* 31, 2210-2221.
- IRF8 is a critical transcription factor for transforming microglia into a reactive phenotype. Masuda T, Tsuda M, Yoshinaga R, Tozaki-Saitoh H, Ozato K, Tamura T, *Inoue K, *Cell Reports* 1, 334-340.
- Mediator CDK subunits are platforms for interactions with various chromatin regulatory complexes. Fukasawa R, Tsutsui T, Hirose Y, Tanaka A, *Ohkuma Y, *J Biochem* 152, 241-249.
- Histone H2A mono-ubiquitination is a crucial step to mediate PRC1-dependent repression of developmental genes to maintain ES cell identity. Endoh M, Endo TA, Endoh T, Isono K, Sharif J, Ohara O, Toyoda T, Ito T, Eskeland R, Bickmore WA, Vidal M, Bernstein BE, *Koseki H, *PLoS Genet* 8, e1002774.
- Histone monoubiquitylation position determines specificity and direction of enzymatic cross-talk with histone methyltransferases Dot1L and PRC2. Whitcomb SJ, Fierz B, McGinty RK, Holt M, Ito T, Muir TW, *Allis CD, *J Biol Chem* 287, 23718-23725.
- A DYNC1H1 mutation causes a dominant spinal muscular atrophy with lower extremity predominance. Tsurusaki Y, Saitoh S, Tomizawa K, Sudo A, Asahina N, Shiraishi H, Ito J, Tanaka H, Doi H, Saitsu H, Miyake N, *Matsumoto N, *Neurogenetics* 13, 327-332.
- Diffuse central hypomyelination presenting as 4H syndrome caused by compound heterozygous mutations in POLR3A encoding the catalytic subunit of polymerase III. *Terao Y, Saitsu H, Segawa M, Kondo Y, Sakamoto K, Matsumoto N, Tsuji S, Nomura Y, *J Neuro Sci* 320, 102-105.
- A novel SACS mutation in an atypical case with autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay (ARSACS). Miyatake S, Miyake N, Doi H, Saitsu H, Ogata K, Kawai M, *Matsumoto N, *Intern Med* 51, 2221-2226.
- Whole exome sequencing identifies KCNQ2 mutations in Ohtahara syndrome. Saitsu H, Kato M, Koide A, Goto T, Fujita T, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, *Matsumoto N, *Ann Neurol* 72, 298-300.
- PAPSS2 mutations cause autosomal recessive brachyolmia. Miyake N, Elcioglu NH, Iida A, Isguven P, Dai J, Murakami N, Takamura K, Cho TJ, Kim OH, Hasegawa T, Nagai T, Ohashi H, Nishimura G, Matsumoto N, *Ikegawa S, *J Med Genet* 49, 533-538.
- CASK aberrations in male patients with Ohtahara syndrome and cerebellar hypoplasia. *Saitsu H, Kato M, Osaka H, Moriyama N, Horita H, Nishiyama K, Yoneda Y, Kondo Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N, *Epilepsia* 53, 1441-1449.
- Identification of a novel in-frame de novo mutation in SPTAN1 in intellectual disability and pontocerebellar atrophy. Hamdan FF, Saitsu H, Nishiyama K, Gauthier J, Dobrzyniecka S, Spiegelman D, Lacaille JC, Décarie JC, Matsumoto N, Rouleau GA, *Michaud JL, *Eur J Hum Genet* 20, 796-800.
- Early onset West syndrome with severe hypomyelination and coloboma-like optic discs in a girl with SPTAN1 mutation. *Writzl K, Primec ZR, Stražišar BG, Osredkar D, Pečarič-Meglič N, Kranjc BS, Nishiyama K, Matsumoto N, Saitsu H, *Epilepsia* 53, e106-110.
- Contiguous deletion of SLC6A8 and BAP31 in a patient with severe dystonia and sensorineural deafness. *Osaka H, Takagi A, Tsuyusaki Y, Wada T, Iai M, Yamashita S, Shimbo H, Saitsu H, Salomons GS, Jakobs C, Aida N, Toshihiro S, Kuhara T, Matsumoto N, *Mol Genet Metab* 106, 43-47.
- A girl with early-onset epileptic encephalopathy associated with microdeletion involving CDKL5. *Saitsu H, Osaka H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Matsumoto N, *Brain Dev* 34, 364-367.
- Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome. Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Kosho T, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kaname T, Naritomi K, Kawame H, Wakui K, Fukushima Y, Homma T, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Mizuno S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Shiina M, Ogata K, Ohta T, Niikawa N, Miyatake S, Okada I, Mizuguchi T, Doi H, Saitsu H, *Miyake N, *Matsumoto N, *Nature Genet* 44, 376-378.
- Neurodevelopmental features in 2q23.1 microdeletion syndrome: report of a new patient with intractable seizures and review of literature. Motobayashi M, Nishimura-Tadaki A, Inaba Y, Kosho T, Miyatake S, Niimi T, Nishimura T, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Koike K, *Am J Med Genet A* 158A, 861-868.

- Association of genomic deletions in the STXBP1 gene with Ohtahara syndrome. *Saitu H, Kato M, Shimono M, Senju A, Tanabe S, Kimura T, Nishiyama K, Yoneda Y, Kondo Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N, *Clin Genet* 81, 399-402.
- Rapid detection of gene mutations responsible for non-syndromic aortic aneurysm and dissection using two different methods: resequencing microarray technology and next-generation sequencing. Sakai H, Suzuki S, Mizuguchi T, Imoto K, Yamashita Y, Doi H, Kikuchi M, Tsurusaki Y, Saitu H, Miyake N, Masuda M, *Matsumoto N, *Hum Genet* 131, 591-599.
- Homozygous c.14576G>A variant of RNF213 predicts early-onset and severe form of moyamoya disease. Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saitu H, Shimojima K, Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawauchi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, *Matsumoto N, *Neurology* 78, 803-810.
- Missense mutations in the DNA-binding/dimerization domain of NFIX cause Sotos-like features. Yoneda Y, Saitu H, Touyama M, Makita Y, Miyamoto A, Hamada K, Kurotaki N, Tomita H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Ogata K, Naritomi K, *Matsumoto N, *J Hum Genet* 57, 207-211.
- A family of oculofaciocardiodental syndrome (OFCD), with a novel BCOR mutation and genomic rearrangements involving NHS. Kondo Y, Saitu H, Miyamoto T, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Ryoo NK, Kim JH, Yu YS, Matsumoto N, *J Hum Genet* 57, 197-201.
- De novo and inherited mutations in COL4A2, encoding the type IV collagen $\alpha 2$ chain cause porencephaly. Yoneda Y, Haginoya K, Arai H, Yamaoka S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Yokochi K, Osaka H, Kato M, Matsumoto N, *Saitu H, *Am J Hum Genet* 90, 86-90.
- Non-Ewald methods: theory and applications to molecular systems. *Fukuda I, Nakamura H, *Biophys Rev* 4, 161-170.
- Simple and accurate scheme to compute electrostatic interaction: zero-dipole summation technique for molecular system and application to bulk water. Fukuda I, Kamiya N, Yonezawa Y, *Nakamura H, *J Chem Phys* 137, 054314.

【書籍】

- 中村春木 編、緒方一博 共著「見てわかる構造生命 科学的生命科学研究へのタンパク質構造の利用」化学同人、2014年。
- Yamaguchi Y, Kokubo T, et al. *Encyclopedia of Systems Biology* (Dubitzky W, Wolkenhauer O, Cho KH, Yokota H, eds), Springer, 2013.
- 原田昌彦「染色体と細胞核のダイナミクス DNAを操る細胞の仕組み」(原口徳子・平岡泰 編)「第11章 核骨格と核タンパク質」p. 169-183、化学同人、2013年。
- 原田昌彦「ベーシックマスター分子生物学(改訂2版)」(東中川徹、大山隆、清水光弘 編)「第8章 翻訳の調節」p. 216-241、オーム社、2014年。

【ホームページ】

- 新学術領域研究「転写サイクル」 <http://transcriptioncycle.org/>

【主催シンポジウム】

- 第3回全体班会議、2014-08-04~06(予定)(オーガナイザー：山口雄輝)、山梨県。
- 第2回トレーニングワークショップ「ChIP-Seq データ解析」2014-03-06~07(オーガナイザー：藤井聡)、九工大。
- 冬の若手ワークショップ 2014、2014-01-30~02-01(オーガナイザー：山口雄輝)、群馬県。
- 第1回トレーニングワークショップ「1分子イメージング」2013-12-17~18(オーガナイザー：十川久美子)、東工大。
- 第36回日本分子生物学会年会 ワークショップ「Active Crosstalks between Transcription and Chromatin Regulation by Various Proteins and RNAs」(オーガナイザー：大熊芳明、伊藤敬)、2013-12-03、兵庫県。
- 第2回全体班会議、2013-08-05~07(オーガナイザー：緒方一博)、神奈川県。
- 第35回日本分子生物学会年会 ワークショップ「分子修飾による転写とエピジェネティック制御のクロストーク」(オーガナイザー：大熊芳明、伊藤敬)、2012-12-13、福岡県。
- 日本遺伝学会第85回大会 ワークショップ「ゲノム発現制御の新展開」(オーガナイザー：山口雄輝) 2013-9-19、慶応大。
- 第1回全体班会議、2012-10-29~31(オーガナイザー：伊藤敬)、長崎大。

【アウトリーチ活動】

- (山口雄輝)
- 2013-12-13 小山高専(栃木県) 出前授業
 - 2013-11-09 星美学園高校(東京都) 出前授業
 - 2012-11-13 小山高専(栃木県) 出前授業
 - 2012-10-31 佐世保高専(長崎県) 出前授業
- (十川久美子)
- 2013-10-03 大手前高校 SHH(大阪府) 模擬授業
 - 2012-10-04 大手前高校 SHH(大阪府) 模擬授業
- (松本直通)
- 2012-08-25 プレスリリース：孔脳症・裂脳症の遺伝的要因を解明！-COL4A1変異が裂脳症の原因に
→各種ウェブサイトに掲載
 - 2013-02-25 プレスリリース：細胞内の"ごみ掃除"(自食)に関わる遺伝子の異常が知的障害を引き起こす～患者における突然変異の発見から～
→毎日新聞、科学新聞、神奈川新聞、茨城新聞、上毛新聞に掲載、各種ウェブサイトに掲載
 - 2013-06-12 プレスリリース：横浜市大、乳幼児の疾患「ネマリンミオパチー」の責任遺伝子を発見
→各種ウェブサイトに掲載
 - 2013-08-30 プレスリリース：横浜市大、小児の難治性てんかんの原因遺伝子を発見-新たな発症機構を示唆
→各種ウェブサイトに掲載
- (高橋秀尚)
- 2013-07-15 北海道大学学術交流会館にて中学生・高校生を対象にアウトリーチ活動(北大理系応援キャラバン)
 - 2013-12-01 北海道大学農学部講堂にて小学生を対象にアウトリーチ活動(北大理系応援キャラバン)
- (原田昌彦)
- 2013年10月 長野県立諏訪清陵高等学校 模擬授業
- (黒柳秀人)
- 2014-02-21 東京都文京区 市民公開講座「遺伝子のプロセッシング暗号を解いて心臓や筋肉の病気を治す！」

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。

研究領域の推進方策

領域全体としては概ね順調に進んでいると自己評価している。個々の研究課題レベルで見ると、論文の件数という点でやや物足りない課題もあるが、未発表の興味深いデータが得られていたり、領域の推進に欠かせない独自技術を有して共同研究のサポート役として重要な役割を果たしている等、個々に酌むべき事情があり、大きな問題とは考えていない。ただ、領域の設定期間内に最大限の成果を挙げるため、班員間で情報交換したり率直な意見交換をする機会をこれまで以上に増やす等、領域として十分にケアしていきたい。

設定期間の後半に向け、総括班が主体となって以下の活動を行なっていく。

(1) 領域内共同利用システムの一層の活用

H25年度までに次世代シーケンサー、1分子蛍光顕微鏡、構造解析用装置を導入し、領域内共同利用システムを立ち上げた。今後はこれらの装置を利用した共同研究の一層の推進と、ゲノムワイドの解析手法の普及を図っていく。シーケンサーの Ion Proton については新バージョンの PII chip の発売延期等のやむなき事情により活用が予定よりも遅れていたが、最近ようやく ChIP-seq と RNA-seq のプロトコルを確立できたので、今後、利用率を高めていきたい。

(2) トレーニングワークショップの開催

H25年度に「1分子イメージング」と「ChIP-seq データ解析」という2つのテーマに関するトレーニングワークショップ（TWS）を実施した。実技や演習に多くの時間が割かれ、よく練られた講習内容だったと参加者からは好評だった。今後も引き続き班員の要望を聞きながら、次世代シーケンシングや構造生物学、1分子等のウェット実験ならびにドライ解析に関する TWS を実施していきたい。

本領域はウェットとドライの融合を謳っている。班会議では十分なフリーディスカッションの時間を設けるのは難しいので、代わりにドライ解析（ゲノム情報解析や分子モデリング、シミュレーション等）の TWS を開催し、ウェットとドライの融合に関心の深いメンバーを集めてブレインストーミングの機会を設けるのが効果的と考え、実施を計画している。

(3) その他ミーティングの開催と若手研究者の育成

全体班会議（年1回、8月頃に開催）と、若手研究者を中心にプログラムを編成する「冬の若手ワークショップ」（年1回、1月頃に開催）が領域内の交流のメインの場となっている。さらに、国際シンポジウムを H26年度と H28年度の秋口に開催予定である。これまで総括班会議は全体班会議の日程の中で行ってきたが、会議時間を延ばす等、総括班会議をより実質化して、今後に向けたきめ細かな対応を行ないたい。

本領域ではまた、「若手海外派遣」として年間2~4名程度が海外の学会に参加し発表するための海外旅費と学会参加費をサポートしている。この活動は継続していきたい。

(4) 広報活動

引き続き、領域 HP (<http://transcriptioncycle.org>) やニュースレターを通じて領域の活動を広報し、アウトリーチ活動等も積極的に行なっていく。

班員の交代について

計画研究のうち、中村班 研究分担者として領域のバイオインフォマティクスを担っていた皿井明倫（九工大・情報工学研究院・教授）が H25年7月に急逝したため、連携研究者だった藤井聡（九工大・情報工学研究院・助教）を研究分担者とし、矢田哲士（九工大・情報工学研究院・教授）を新たに連携研究者に加えた。皿井が抜けた穴は大きいですが、2名の若手研究者の補充により、領域のバイオインフォマティクス解析は遅滞なく進められると考えている。皿井研の助教だった藤井聡は領域の立ち上げ以来、皿井とともに班会議に参加する等、領域の活動に実質的に関与し班員との関係を築いてきたし、H26年3月にはトレーニングワークショップ「ChIP-seq データ解析」のオーガナイザーとして情報解析の普及に尽力する等、活発に活動している。

公募研究は H25 年度に 18 件採択したが、当初採択した者のうち大川恭行（九州大学・医学研究院）と齊藤典子（熊本大学・発生医学研究所）が別の新学術領域の計画班員として採択されたため、辞退を余儀なくされた。大川は ChIP-seq 等のゲノムワイド解析を精力的に進めている研究者として、齊藤は核構造という比較的手薄の領域をカバーする研究者として、それぞれ役割を期待していただけに残念だった。2 人には班友として今後も領域の活動に関わってもらふこととし、2 名の公募班員を補充した。

公募研究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

ゲノムワイドやトランスクリプトームワイドの解析手法は ChIP-seq、ChIP-exo、RNA-seq、GRO-seq、NET-seq、PAR-CLIP、iCLIP、4C、5C、ChIA-PET、Hi-C 等、膨大な数に登る。シーケンサーの進歩に呼応して新しい解析手法が次々と開発されており、当該分野の研究者ですら把握しきれないほどである。これらを駆使した研究を行なっている者は計画班にも公募班にもいるが、まだ手薄だと感じている。また、TALEN や CRISPR/Cas9 をといた genome engineering の手法や、APEX を用いた *in situ* 相互作用因子解析法等も様々な展開が考えられる有望な技術なので、こうした新しい技術を利用・開発する意欲的な研究者を補充することで、領域をさらに活性化したい。

齊藤典子の辞退により女性の公募班員がゼロになってしまったのは不本意である。新たな価値は多様性から創造されるので、女性や若手、外国人からの応募を積極的に採用したい。H25 年度の公募では女性の応募者自体が少なく、そもそも選べなかったという実情があるので、募集要項を工夫する等により改善したい。

領域の枠を超えた国内外の研究者との連携も、領域推進の有効な手立てである。そのきっかけ作りとして、領域が主催する様々なミーティングに、領域外の注目すべき研究者を国内外問わず招聘し、講演していただいたり、班員の成果報告を聞いていただくのが効果的である。H25 年度の全体班会議では、転写伸長の分野で著名な Conaway 夫妻を米国より招聘し、キーノートレクチャーをしていただいたほか、班員の全講演を聞いていただき、大変よい刺激を与えていただいた。H26 年度と H28 年度には一線級の研究者を国内外から多数招聘して、国際会議を開催する予定である。また、今後開催する TWS の特別講師を領域外の先生に依頼することも検討しており、こうした一步一步の積み重ねによって組織を強化していきたい。