

領域略称名：RNA タクソノミ
領域番号：3604

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)」に係る中間評価報告書

「(研究領域名) ノンコーディング RNA ネオタクソノミ」

(領域設定期間)

平成26年度～平成30年度

平成28年6月

領域代表者 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授・廣瀬 哲郎)

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	5
2. 研究の進展状況	7
3. 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	10
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	12
5. 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）	15
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	20
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	22
8. 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）	23
9. 総括班評価者による評価	24
10. 今後の研究領域の推進方策	26

研究組織 (総括：総括班, 支援：国際活動支援班, 計画：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究, 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	26113001 ノンコーディング RNA ネオタクソノミ	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	廣瀬 哲郎	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授	10
Y00 支援	15K21720 ノンコーディング RNA ネオタクソノミ の実現を加速する国際 活動支援	平成 27 年度 ～ 平成 30 年度	廣瀬 哲郎	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授	10
A01 計画	26113002 ncRNA 作動エレメン トの配列構造の同定	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	廣瀬 哲郎	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授	2
A01 計画	26113003 ncRNA のケミカルタ クソノミ	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	鈴木 勉	東京大学・工学系研究科・教授	1
A01 計画	26113004 ncRNA の細胞内局在 に基づいたネオタクソ ノミの確立	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	塩見 美喜子	東京大学・理学系研究科・教授	4
A02 計画	26113005 ネオタクソノミに応じ た ncRNA の生理機能 の解明	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	中川 真一	北海道大学・薬学研究院・教授	1
A02 計画	26113006 高次神経機能制御に関 わる ncRNA 機能の解 明	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	影山 裕二	神戸大学・遺伝子実験センター・ 准教授	1
A03 計画	26113007 ncRNA 作動装置構築 の分子動態解析基盤の 開発	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	泊 幸秀	東京大学・分子細胞生物学研究 所・教授	2
A03 計画	26113008 ncRNA ネオタクソノ ミのための大規模解析 基盤の開発	平成 26 年度 ～ 平成 30 年度	浅原 弘嗣	東京医科歯科大学・医歯(薬)学 総合研究科・教授	7
計画研究 計 9 件					

A01 公募	15H01462 ヘテロクロマチンの凝縮構造を作り出すノンコーディング RNA 群の解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	長尾 恒治	北海道大学・先端生命科学研究 院・講師	1
A01 公募	15H01463 立体構造から理解する RNA タクソノミ	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	西増 弘志	東京大学・理学系研究科・助教	1
A01 公募	15H01467 代謝酵素遺伝子ノンコーディング mRNA の食餌による発現制御機構の解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	黒柳 秀人	東京医科歯科大学・難治疾患研究 所・准教授	1
A01 公募	15H01473 非コード小分子 RNA によるエピゲノム制御の作動ダイナミクス	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	岩崎 由香	慶應義塾大学・医学部・助教	1
A01 公募	15H01478 エンハンサー RNA の体系的分類と作動原理に関する統合的研究	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	河岡 慎平	A T R・主任研究員	1
A02 公募	15H01464 lncRNA のエピゲノム制御に基づく大腸癌形成能獲得機構の解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	谷上 賢瑞	東京大学・分子細胞生物学研究 所・助教	1
A02 公募	15H01468 表現型に性差を示す long ncRNA Fat60 KO マウスの機能解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	小林 慎	東京医科歯科大学・難治疾患研究 所・非常勤講師	1
A02 公募	15H01470 核内足場クロマチン構造を介した ncRNA, IPW の作動機序の解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	堀家 慎一	金沢大学・学際科学実験センタ ー・准教授	1
A02 公募	15H01471 非コード RNA との結合を介した Mediator 複合体による転写制御機構の解明	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	河原 行郎	大阪大学・医学系研究科・教授	1
A02 公募	15H01472 ミジンコの性決定を制御する長鎖ノンコード	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	加藤 泰彦	大阪大学・大学院工学研究科・助 教	1

	イング RNA の機能解析				
A02 公募	15H01475 真核多細胞微生物の未分化維持に関わる長鎖非コード RNA の動態追跡	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	川田 健文	東邦大学・理学部・教授	1
A02 公募	15H01476 lincRNA と miR2118 によるイネの新しい生殖メカニズム	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	小宮 怜奈	沖縄科学技術大学院大学・研究員	1
A02 公募	15H01477 動原体機能障害で発現するノンコーディング RNA の意義	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	堀 哲也	大阪大学・大学院生命機能研究科・准教授	1
A03 公募	15H01465 RNA 結合タンパク質結合サイト周辺の RNA 構造モチーフ発見とデータベース開発	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	木立 尚孝	東京大学・新領域創成科学研究科・准教授	1
公募研究 計 14 件					

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。

【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】

近年の研究により、かつて「ジャンク」と考えられていたゲノムの広大なノンコーディング領域から、膨大な数の ncRNA が転写され、様々な生命現象で極めて重要な役割を果たしていることが明らかになっている。これらの ncRNA 群は、タンパク質が多彩な機能を持つと同様に、それぞれ多様な特性を持っていると考えられるが、現状では、「タンパク質をコードしない RNA」という除外的分類によって一括りにされてしまっている。このような雑多な分子群の機能を解明するには、個々の分子の特性を整理し、体系的に研究を推進するための戦略が必要不可欠である。

本領域では、RNA の特性を熟知したエキスパートが結集し、個々の ncRNA の機能を担う単位である配列や構造、化学修飾などの作動エレメントを抽出し、それらをもとにした分類体系として ncRNA ネオタクソノミを確立する（図 1）。これにより、各タクソンの ncRNA の機能を予測しながらその特性に応じた機能解析を進めることが可能となり、ncRNA による生体制御機構の全容解明に向けた研究を、世界に先駆けて力強く推進できる。

【研究の学術的背景】

RNA は、太古の生命誕生の鍵を握る重要な生体分子であり、20 世紀に行われた研究によって、mRNA、rRNA、tRNA、U-snRNA などの RNA がタンパク質合成の根幹を担っていることが明らかになった。ところが、21 世紀に入り、その古典的な RNA の機能概念は大きく変貌を遂げつつある。例えば、「小さな RNA」が RNA サイレncing 機構を介して遺伝子発現制御に広く関わっていることは、今や周知の事実となりつつある。また、ヒトやマウスゲノムの大半を占めるノンコーディング領域から膨大な数の ncRNA が産生されており、その一部はエピジェネティックな遺伝子発現制御に関わることが、近年相次いで報告されている。そのような ncRNA の中には、ガン転移や筋ジストロフィーなどの疾患に関わるものも含まれており、ncRNA が原因となる新たな分子病態が明らかになりつつある。しかしながら、ヒトゲノムから転写されている 9,600 種類ともいわれる ncRNA のうち、詳細な機能解析が行われたものはごく一部であり、ncRNA がどのような分子メカニズムで働き、どのような生命現象を制御しているのか、その全体像は未だ厚いベールに包まれている。

このような状況において、領域代表の廣瀬は、核内構造体の骨格として機能する新しいタイプの ncRNA を見出し、器官形成の制御や神経変性疾患の発症に関わっていることを明らかにしてきた。この発見は、これまで全く予想されていなかった ncRNA のポテンシャル、即ち特定の細胞内構造に局在し、光学顕微鏡レベルで観察可能な巨大複合体を構築する能力を示した点で、極めて重要な

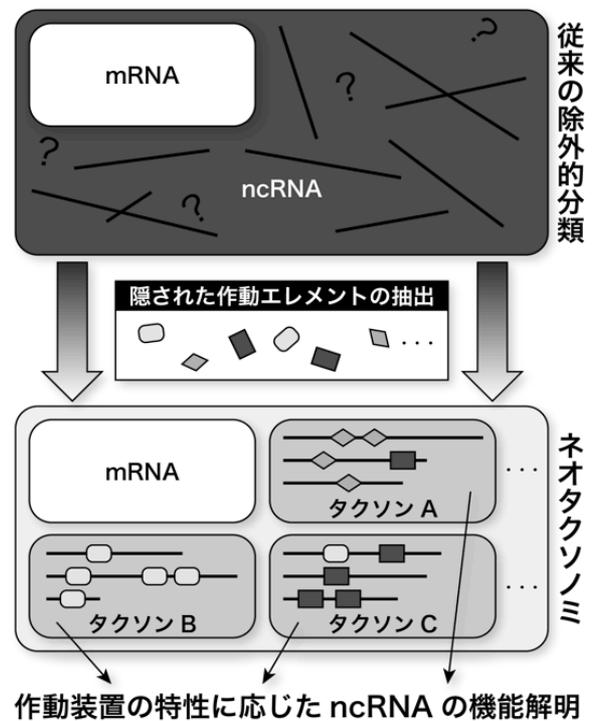


図 1 : ncRNA ネオタクソノミの概念図

ものである。核内構造体に局在し類似の機能を持つ ncRNA は他にも存在しており、これらは、同じ機能カテゴリーとしてまとめられる分子群、即ち一つの ncRNA タクソンを形成していると考えられる。同じファミリーに属するタンパク質が共通の機能ドメインを介して働くのと同様に、各タクソンに属する ncRNA も、共通の機能を受け持つ単位として固有の RNA 配列・構造・修飾（これを作動エレメントと呼ぶ）を持っており、それぞれの特性に応じた様式で、生理現象を制御していると考えられる（図 1）。高等真核生物ゲノムにコードされた ncRNA は膨大な数に上り、これまでに明らかにされている RNA サイレncシング、エピゲノム制御、細胞内構造体形成、といった機能以外にも、多彩な生体制御のための働きを担っていることが予想される。しかしながら、現時点では、ncRNA は「タンパク質をコードしない」という機能とは無相関の指標で一括りにされてしまっており、個々の ncRNA 分子の機能解析が手探りで進められている状況にある。ncRNA による生体制御の全体像を解明するためには、雑多な ncRNA 群を作動エレメントの組み合わせに基づいて各タクソンに整理・分類し、それぞれの特性に基づいた機能解析を戦略的に進めることが求められている。

ncRNA は単独で機能するわけではなく、配列、構造、化学修飾といった作動エレメントにタンパク質が結合し、機能的な複合体である作動装置を形成している（図 2）。本領域では、細胞内の局在や構造体構築など、ncRNA の機能を規定する RNA-タンパク質相互作用、すなわち作動装置の形成を指標として ncRNA 中の作動エレメントを同定し、その組み合わせによって ncRNA をタクソン毎に整理し

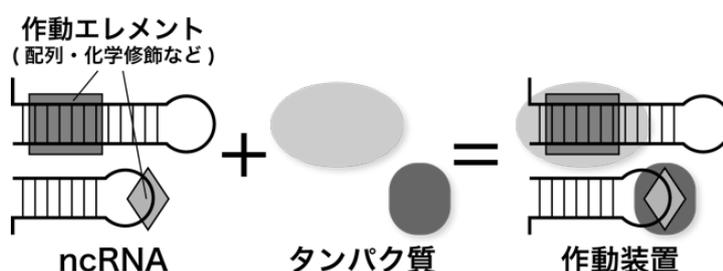


図 2：作動エレメントと作動装置
ncRNA の機能単位である配列や化学修飾などを、作動エレメントと定義する。一方、ncRNA が作動エレメントを介して機能を発揮する際のタンパク質との複合体を作動装置と定義する。

た新しい分類体系「ncRNA ネオタクソノミ」を確立する。また、それぞれの ncRNA 作動装置の動作原理を、分子・細胞・個体レベルでの機能解析を通じて明らかにし、各タクソンに属する ncRNA が生体機能を発揮する際の、共通の分子基盤を明らかにする。さらに、同定した作動エレメントを基にゲノムにコードされた大量の ncRNA 群を各タクソンに分類し、それぞれのタクソンの特性を考慮した機能解析を体系的にすすめてゆく。これらの解析を推進するために必要な新技術開発を含めた一連の研究によって、ncRNA による生命現象の制御機構の全体像を解明することを目指す。

本領域で実施する ncRNA の作動エレメントの抽出および ncRNA ネオタクソノミの確立によって、ncRNA の機能を作動エレメントの組み合わせから推測し、それを検証すること（タンパク質のドメイン構造に基づいた機能予測に相当）が、各種 ncRNA において可能となり、ncRNA の研究全体が飛躍的に促進されることに疑いの余地はない。また、作動エレメントに基づいて機能的な ncRNA を人為的にデザインしたり、ncRNA 作動装置を標的とした化合物スクリーニングを実施することによって、生体機能をコントロールするための新規ツールの開発が可能になる。また、これらの研究成果は、数多ある ncRNA 毒性に起因する神経変性疾患や神経筋疾患などの疾患に対する分子病態の解明や、新規治療ターゲットの開発につながることを期待される。

2. 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ごとに整理する〕(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、現在までに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ごとに記述してください。

本領域では、作動エレメントの抽出と探索を行う作動エレメント同定ユニット(A01)、各々の作動エレメントならびにその組み合わせで規定される ncRNA タクソンと生理現象を対応させる生理機能ユニット(A02)、作動装置の分子動態解析およびゲノムワイドな探索を行うための新技術開発ユニット(A03)を設置している。以下に研究項目ごとの進展状況を説明する。

【A01: 作動エレメント同定ユニット】

作動エレメント同定ユニットでは、ncRNA 機能を担う作動エレメントを、「RNA 配列・構造」「化学修飾」「RNA の細胞内局在」という異なるアプローチによって抽出し、ncRNA のタクソン分けを行っている。さらに作動エレメントの組み合わせにより ncRNA タクソンの機能を予測し、それぞれのタクソンの特性に応じた機能解析につなげていくことを目的としている。

本領域オリジナルな細胞内構造体の骨格として働く ncRNA である“architectural RNA (arcRNA)”を1つのタクソンとして確立するために、核内構造体パラスペックルを作動装置とする NEAT1 arcRNA の作動エレメントを解析した。ヒト半数体培養細胞 HAP1 と CRISPR-Cas9 ゲノム編集技術を組み合わせることによって、クロマチン上での ncRNA 変異解析をこれまでにない高効率で実現することが可能になり、120 種類以上の NEAT1 部分欠失変異体を作成して、作動エレメントを含む ncRNA 領域を複数同定することに成功した (右図)。これは、arcRNA の作動エレメントを定義する上で、重要な進展であると言える。一方で、作動エレメントと相互作用して作動装置を形成するタンパク質因子についても重要な知見を得た。具体的には、NEAT1 と直接相互作用する RNA 結合タンパク質が共通してもっているプリオン様ドメインが集約してヒドロゲル凝集することが、パラスペックル構造形成の分子基盤であることを明らかにした。さらに複数のプリオン様 RNA 結合タンパク質が、NEAT1 上で会合するのを促進する因子として SWI/SNF 複合体を同定した。こうして、1. arcRNA 作動エレメント、2. RNA 結合タンパク質の作用機構、3. 会合の促進因子の発見によって、arcRNA 作動装置形成の詳細な分子メカニズムが明らかになった。

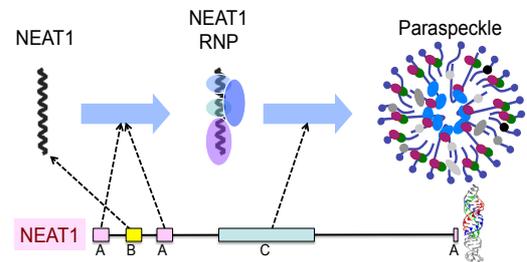


図.NEAT1 の作動エレメント領域(A~C)

一方で、arcRNA タクソンを確立するためには、類似機能をもつ arcRNA 分子種をさらに同定し、複数の arcRNA 間での作動エレメントの共通性を見いださなくてはならない。そのために、arcRNA が示すユニークな特徴として、抽出時に著しい難溶性を示すことを見だし、この性質を利用した次世代シーケンス解析によって、新たな arcRNA 候補を複数同定することに成功した。また RNase 感受性な核内構造体のスクリーニングによっても複数の arcRNA 作動装置候補を発見した。こうした成果によって、NEAT1 で確立された arcRNA と同様な arcRNA を次々と同定し作動エレメントの解析に結びつける体制が出来上がり、今後は上記の解析をさらにすすめると同時に、生理機能解析ユニット(A02)の成果を結びつけ、作動エレメントから生体機能までがひとつなぎにする方向に研究を展開する予定である。

RNA 化学修飾の解析では、クラシカルな ncRNA である rRNA や tRNA に存在する RNA 修飾が、これらの ncRNA の生合成や機能にどのような役割を果たしているかを解析した。まず真核生物の rRNA の N4 アセチルシチジン (ac4C) 部位とその修飾酵素 RPA1 を酵母とヒトで同定し、この化学修飾が rRNA プロセッシングに必須であることを明らかにした。また原核生物の 23S rRNA 上への

サブユニットアセンブリー過程において、RlmE メチル化酵素によって特異的に 2'-O-メチル化された部位が、リボソームタンパク質のアセンブリーを規定する目印 (=作動エレメント) として機能することを初めて明らかにした。またこの他にも tRNA 機能獲得に重要な複数の RNA 化学修飾を担う新規化学修飾酵素をそれぞれ発見した。こうした成果によって、RNA の化学修飾が ncRNA の生合成と作動装置の構築、機能獲得のために重要な作動エレメントとして機能していることを明らかにすることができた。

次に共通の RNA ポリメラーゼによって核内で転写された RNA 種が、様々な ncRNA や mRNA など、それぞれの RNA 種として異なる運命を獲得する機構を、RNA の細胞内局在を指標として解析するために、ショウジョウバエの mRNA でありながら piRNA 前駆体としても機能する Tj RNA が、piRNA 産生を行う運命を獲得する作動エレメントを探索した。その結果、Yb タンパク質が認識する 100 塩基の作動エレメントを同定することに成功し、このエレメントを融合した人工遺伝子からも piRNA が産生できることを示した。この他に Yb タンパク質の機能として、Yb ボディと Flam ボディという 2 つの細胞内構造体において、前駆体 RNA からの piRNA の産生を円滑にすすめる役割を果たしていることを明らかにした。こうした成果から、この作動エレメントを指標に piRNA 前駆体を一つのタクソンとして分類する道筋が確立されたと考えられる。

以上の通り、ncRNA の作動エレメント同定に向けた研究は、配列・構造、化学修飾、細胞内局在機構のそれぞれの観点から、当初設定された目的に従って極めて順調に進展しており、また領域内での生理機能解析ユニット(A02)との連携も進んでいる。

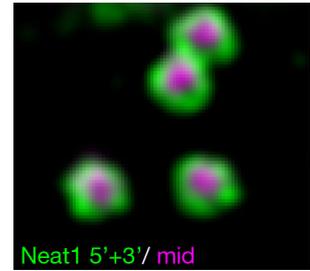
【A02: 生理機能解析ユニット】

これまでに同定された ncRNA の数に比して、ncRNA が個体レベルでどのような生命現象に関わっているかについての知見は驚くほど少ない。生理機能解析ユニットでは、本領域において同定された作動エレメント、ならびにその組み合わせで定義される ncRNA タクソンが、どのような生理現象を制御しているのかを、モデル生物を用いて個体レベルで検証することを目的としている。

マウスを用いた解析では、作動エレメント同定ユニットと連携し、パラスペックルの骨格因子である Neat1 のアイソフォーム選択を制御する潜在的 poly-A 付加シグナル欠失マウスの作製を行った。Neat1 にはパラスペックル形成能を持たない約 3 kb の Neat1_1 と、パラスペックルの骨格として機能する約 20 kb の Neat1_2 が存在し、前者は潜在的な poly-A 付加シグナルが活性化することによって作られる。通常、生体内の多くの細胞ではこの潜在的な poly-A 付加シグナルが常に活性化されているため、パラスペックルの形成が起こらない。一方、潜在的 poly-A 欠失マウスでは Neat1_1 の産生の低下に伴って Neat1_2 の発現が上昇し、パラスペックルの過形成が起きていた。さらに、通常パラスペックルが形成されていない唾液腺が顕著に肥大することも明らかとなった。このように、ncRNA の作動エレメント特異的な変異マウスを作製することによって、作動エレメントと生体機能を紐付けすることが可能であることを実証することができた。

また、ショウジョウバエをモデルシステムとした解析では、新規 ncRNA である lol の分子機能解析を行った。lol の変異体では軸索ガイダンス分子の発現異常が起き、特にキノコ体関連の神経回路形成に異常が見られた。また、クロマチン制御因子であるポリコム遺伝子の変異体で見られる体節の過剰形成が、lol との二重変異体で著しく亢進されることが明らかとなり、lol はポリコムと複合体を形成してその機能を正に制御するクロマチン制御タクソンの arcRNA であることが強く示唆された。さらに、後述する超解像顕微鏡を用いて lol の細胞内局在を詳しく観察したところ、核内で直径 500 nm 程度の明確な構造体を形成するほか、核質に多数のドット状のシグナルも観察された。これらの観察は、lol がクロマチン制御因子と複合体を形成して標的遺伝子の発現を制御しているというモデルとよく合うものであった。以上のように、マウスやショウジョウバエをモデルとした ncRNA の生理機能の解析は大きな進展を見せている。

arcRNA を始めとして、一群の ncRNA は核内で特定の構造体を形成するものが多い。これらの構造体の微細構造を明らかにすることは ncRNA の機能を理解する上で非常に重要であるが、大きさとしては可視光の回折限界である 200nm 付近のものが多く、通常の光学顕微鏡での観察は不可能である。そこで、従来の光学顕微鏡の分解能を超える 50-100 nm の解像度を持つ超解像顕微鏡を用いて RNA とタンパク質を高感度かつ高解像度で観察する手法を新たに確立した。この手法を用いてパラスペックルの微細構造を観察したところ、Neat1_2 の 5'および 3'領域が外殻に、中心領域が中心部に来る特徴的な Core-Shell 構造を持つことが分かった (右図)。また、X 染色体の不活性化を制御する ncRNA である Xist も特徴的な構造を取っていることも明らかとなり、超解像顕微鏡を用いた微細構造観察が ncRNA が形成する構造体の解析に極めて有用であることが分かった。



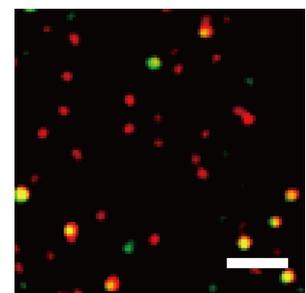
以上、本ユニットの研究は極めて順調に進展しており、特に超解像顕微鏡を用いた解析では、予想を超えた成果が得られつつある。

【A03: 新技術開発ユニット】

新技術開発ユニットでは、ncRNA ネオタクソノミの実現に向け、作動装置の特性に応じた機能解明を効果的に推進するため、マクロ・ミクロの両面から新しい技術の開発を行い、領域研究を多面的に拡張することを目的としている。

マクロな観点からは、多数のタンパク質の細胞内局在を同時かつ経時的に観察することができるハイコンテツツ顕微鏡システムを用いて、我が国で作成された GFP タグ付ヒト完全長 cDNA ライブラリーの中から、作動エレメント同定ユニット(A01)の研究成果によって arcRNA の作動装置構築に重要であることが示唆されているプリオン様ドメインタンパク質 (60 種) や、一般的な RNA 関連タンパク質 (1200 種) を抽出し、各タンパク質の炎症刺激下・ヒートショック刺激下における細胞内挙動について解析を行った。その結果、複数の新規タンパク質が刺激下における細胞内挙動を変化させ、細胞内構造体に局在することが明らかになったため、今後その性状と機能について詳細な解析を進める予定である。また、ヒト完全長 cDNA 5000 種が組み込まれているルシフェラーゼレポーターライブラリーを活用することにより、乳がん発症に関与する microRNA および軟骨恒常性に関与する microRNA の新規ターゲット遺伝子を複数同定することに成功した。さらに、CRISPR や TALEN といったゲノム編集技術を ncRNA の機能解析に適する形に独自に最適化し、効率よく ncRNA の機能を細胞・個体レベルで遺伝学的に解析する手法を開発した。

一方、ミクロな観点からは、代表的な ncRNA である siRNA が、分子シャペロンを含む複数のタンパク質の助けを借りて Argonaute タンパク質に正しく取り込まれ、RISC と呼ばれる作動装置を形成する一連の過程を試験管内で再構成し、一分子イメージング技術を用いてその動的な分子動態を観察することに成功した (右図)。これにより、これまでは捉えることが不可能だった RISC 形成の詳細な過程や分子シャペロンの役割が分子レベルで明らかになった。さらに、形成された RISC が標的を認識・切断・放出する過程(すなわち RNAi の作用過程)についても一分子イメージング解析を行うことに成功し、RISC が標的 RNA をすばやく正確に切断した後、切断した標的 RNA を放出するしくみを明らかにした。



以上の通り、ncRNA ネオタクソノミの拡張に向けた技術開発は、大規模解析・一分子解析の両面から、当初設定された目的に従って極めて順調に進展しており、領域内での技術共有に向けたノウハウも蓄積しつつある。

3. 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（2ページ以内）

審査結果の所見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。

【留意事項】

- 本研究領域では、高額な設備（超解像顕微鏡）の導入が予定されているが、その必要性や領域内での運用・共用方法などを明確化し、領域内で有効に活用する工夫を検討すること。

これまでの国内の RNA 関連研究は生化学的な研究を中心に行われてきており、国際的にも高い評価を受けてきていたが、RNA 作動装置の細胞内での局在や挙動を解析するような研究は手薄であった。その一つの理由に、従来の光学顕微鏡の分解能（~200 nm）は RNA が作る複合体の内部構造の観察に不十分であったことが挙げられる。積極的に細胞学的な視点を導入して ncRNA ネオタクソノミ研究を爆発的に発展させるために、平面分解能 50 nm 程度の性能を持つ超解像顕微鏡（Carl Zeiss 社製 ELYRA PS.1）を総括班費から購入し、領域内での共通機器として領域班員が利用する上での利便性を考慮して、東京大学分子細胞生物学研究所に設置した。また、専用の予約システムを領域ウェブサイト上に実装し、スムーズな運用・共用体制を整えた。

初年度は、設置機器を用いて細胞内の ncRNA 作動装置を予想される分解能で検出するための、観察用サンプル作成のための細かいノウハウの蓄積と各ステップの至適化が、計画班員の中川によって哺乳類細胞を利用して精力的になされ、十分満足しうる観察像をルーティーンに取得できるようになった。これらの細かい実験のノウハウは、本領域ホームページの公式ブログにおいて公開し、情報を領域内外に発信することにつとめた。また超解像顕微鏡の ncRNA 作動装置観察の実験手法に関する論文を国際誌 *Methods* に発表した（Mito et al., *Methods* 2016）。



こうした準備期間を経て、領域班員に広く利用してもらうことを目的に、領域班員を対象にした超解像顕微鏡利用講習会を、設置直後を含めてこれまでに3度開催している。特に2015年9月の講習会では、公募班員も含めた12名の参加があり、各自様々な生物種のサンプルを持ち寄り2泊3日の日程で in situ ハイブリダイゼーションと免疫染色の一連の作業を行った。その結果、それぞれのサンプル毎に細かい条件の至適化が必要であることも明らかになり、引き続き領域内で密に連携しながら進めていくこととした。また遠方の班員にも超解像顕微鏡を活用してもらうため、中川に班員から送付された試料の受託観察を受け付け、これまでに4件の支援を行っている。さらに、領域外の研究者コミュニティにも超解像顕微鏡を広く活用してもらうため、東京大学、京都大学、理化学研究所の領域外研究者から計3件の受託観察、外部利用を受け付け、そのうち1件は論文として *Nature Microbiology* 誌に発表されている。

上記の哺乳類細胞において至適化された条件で、ncRNA 作動装置である核内構造体パラスペックルの詳細な微細構造解析が中川によってなされ、その成果は世界に先駆けた成果として、現在細胞生物学分野の一流誌である *J Cell Biol* 誌に論文リバイス中である。また計画班員の廣瀬、塩見、影山も複数の ncRNA 作動装置の超解像顕微鏡観察をすすめており、それぞれ ncRNA の機能解明に重要な知見が得られている。

なお、2016年5月に中川が北海道大学教授として栄転したため、超解像顕微鏡機器を東京大学から北海道大学に移設する準備を進めている。現在の領域班員が当機器を利用する場合は、中川との密な連携のもと実施していることから、設置場所の移動は利用形態に大きな影響を及ぼすことはないが、今後班員が本機器を利用する際には、それにかかる旅費を総括班からサポートすることを検討しており、当機器を用いたより多くの研究成果が得られる体制を維持する準備をすすめている。

- 新規タクソミを作り出すにあたり、データの体系的整理を担当する研究者やゲノム科学的な視点から新奇タクソミを探索する研究者の必要性なども検討すべきである。このため、これから分野の研究を公募研究により推進することが必要である。

上記で指摘されているとおり、申請時の計画班員にはゲノムワイドに特定の機能の ncRNA を探索する研究を行う研究者が含まれていなかった。個別の ncRNA 機能解析によって得られた作動エレメントを基にゲノムワイドに同一タクソンに属する ncRNA 分子種を探索する研究はネオタクソミを実現する上で必須であると考えられるため、本領域でその対策を検討し、現段階で以下の様な対応策を講じて、ネオタクソミの実現に向けて研究を推進している。

公募研究課題の審査においては、審査員からのアドバイスに従い、PAR-CLIP と呼ばれる ncRNA と相互作用タンパク質をゲノムワイドに探索する手法を用いた研究（公募研究⑨ 河原）と、バイオインフォマティクスによって、ncRNA とタンパク質の相互作用情報から新しい規則性を見いだそうとする研究課題（公募研究⑭ 木立）を採択した。前者の河原は、PAR-CLIP 法のエキスパートであり、作動装置を構成する各種タンパク質が ncRNA のどの部位に結合しているのかを高分解能で解析するための高い技術を有しているため、同定された作動エレメントとタンパク質の結合状況をモニターするための重要な実験をサポートできる。そこでこの実験のノウハウを含めた実験プロトコルを、中川と廣瀬が編集した ncRNA 実験プロトコル集 (*Methods Mol Biol*, 2014) に執筆してもらい、領域内外の研究者に公開した。一方後者の木立は、RNA のバイオインフォマティクスで実績があり、本領域では上記 PAR-CLIP によってマップされた RNA 上のタンパク質結合部位近傍の二次構造解析を行っている。これによって作動エレメントと結合タンパク質からなる作動装置の機能単位を構成する RNA 配列・構造の規則性を探索するための重要な情報を提供することができる。これら 2 つの公募研究によって、作動エレメントから作動装置形成への規則性を体系的に探索する研究が補完されたと考えられる。

一方で申請当初は、計画班において特定のタクソンに属する ncRNA の作動エレメントの個別解析が行われる予定であったため、作動エレメントが同定できるまでは同一タクソンを構成する他の ncRNA 分子を探索する手立てが存在しなかった。そんな中で領域代表者の廣瀬は、arcRNA タクソンに属する ncRNA 分子が共通して RNA 抽出時に著しい難溶性を示すことを見だし、この性質をもとに新たな難溶性 RNA を次世代 RNA-seq 解析で見いだすことによって、arcRNA 候補を複数同定することに成功した。また、この研究成果に着想を得て、計画班員の中川は廣瀬と協力して arcRNA が UV 照射時に高効率でタンパク質にクロスリンクされることを見出し、グアニジン塩酸法による RNA 抽出による回収率の低下を指標に、新規 arcRNA 候補を複数同定している。これによって、複数の arcRNA 候補の作動エレメントを比較する道筋が開け、作動エレメントを基にした ncRNA タクソンを構築することが現実的になったと考えられる。

【参考意見】

- 今後発展が期待される重要な研究領域であり、将来が期待される若手研究者を中心に多くの公募研究の採択が望まれる。

公募研究を採択するにあたっては、ncRNA の作用メカニズムあるいは生体機能を深く踏み込み、独自の解析系を有する若手・中堅研究者による挑戦的な課題を優先的に採択した。実際に採択された公募班員 14 人の平均年齢は 39.8 歳、うち 6 人が 30 歳代の研究者と、若手中心の研究体制を作り上げた。

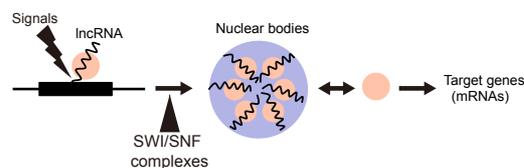
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）【研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する】 （3 ページ以内）

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。

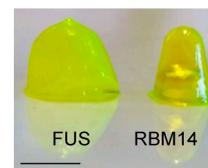
【研究項目 A01: 作動エレメント同定ユニット】

- 計画研究①の廣瀬と富田は共同で、本領域オリジナルな arcRNA タクソンに属する未同定の RNA によって形成される新規核内構造体を探索するために、蛍光タンパク質で可視化した RNase 感受性構造体のスクリーニングを実施し、arcRNA によって形成される 2 つの構造体を同定した。さらに各構造体の構成因子の機能を詳細に解析し、2 つの構造体が融合・分離する条件を見出した (Mannen et al., *J Cell Biol* 2016)。

- 計画研究①の廣瀬は、arcRNA タクソンに属する NEAT1 ncRNA の作動装置として働くパラスペックル構造体の形成の必須因子として、SWI/SNF クロマチン再構築複合体をフランスとの国際共同研究で同定した。この複合体の ATP 依存的クロマチン再構築活性は、上記機能には必要なく、また別の arcRNA 依存的核内構造体の形成にも必須な共通因子であることが示され、arcRNA 作動装置形成の共通メカニズムの存在が示唆された (右図) (Kawaguchi et al., *PNAS* 2015)。



- 計画研究①の廣瀬はパラスペックルを形成している複数の RNA 結合タンパク質が共通してもつプリオン様ドメインが、ヒドロゲル凝集 (右図) を介して、パラスペックル構築にかかわることをオーストラリアとの国際共同研究で明らかにした (Hennig et al., *J Cell Biol* 2015)。



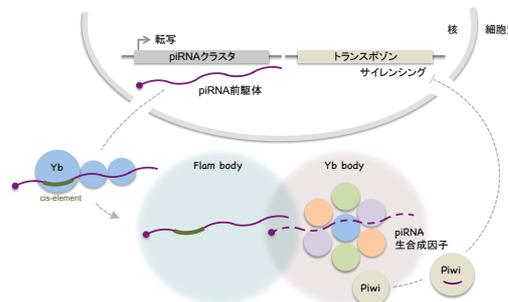
- 計画研究①の富田は、tRNA の 3'末端プロセッシングを行うクラス IICCA 付加酵素の立体構造を解析し、酵素が基質付加部位を認識する機構、および基質と産物を識別する機構の分子基盤を明らかにした (Yamashita et al., *Structure* 2015, 2016)。

- 計画研究②の鈴木は、rRNA 中の N4 アセチルシチジン (ac4C) 部位とその修飾酵素 RPA1 を酵母とヒトで同定し、この化学修飾が rRNA プロセッシングに必須であることを明らかにした (Ito et al., *J Biol Chem* 2014a,b)。

- 計画研究②の鈴木は、23S rRNA 上へのサブユニットアセンブリーに RlmE による特異的な 2'-O-メチル化が必要であることを明らかにした。これによって RNA 化学修飾が ncRNA 作動装置形成の作動エレメントとして働くことの実例となった (Yoshida et al., *PNAS* 2015)。

- 計画研究②の鈴木は、tRNA における新規化学修飾酵素を発見し、そのうちの tRNA メチル化酵素 NSUN3 は、翻訳開始を規定しミトコンドリア機能に重要な役割を果たすことを明らかにした (Sakai et al., *Nucl Acids Res* 2016; Nakano et al., *Nat Chem Biol* 2016)。

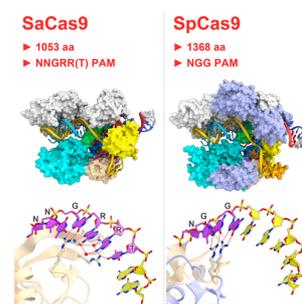
- 計画研究③の塩見は計画研究④の中川や公募研究④の岩崎と共同で、piRNA の生合成の場である Yb ボディに隣接する新規構造体 Flam ボディを同定し、Yb タンパク質が piRNA 生合成因子を Yb body に、piRNA 前駆体を Flam body に集積することによって piRNA 生合成経路の開始を導く因子であることを明らかにした (右図) (Murota et al., *Cell Rep* 2014)。



- 計画研究③の塩見は、Yb が、piRNA 前駆体を細胞

内で選択するために piRNA 前駆体内の作動エレメントにまず一次的に結合するトランス因子であること、また、その下流領域には二次的に結合することによって piRNA 産生領域を決定する因子であることを見いだした (前項図) (Ishizu et al., **Cell Rep** 2015)。

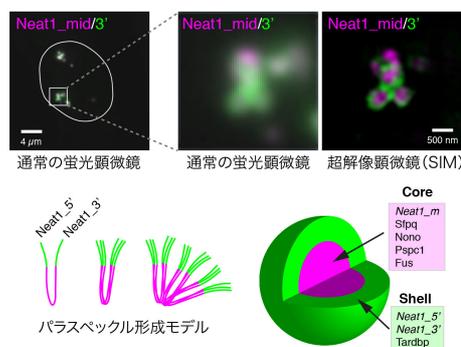
- 公募研究②の西増は、原核生物の RNA サイレンシングの作動装置である *Streptococcus pyogenes* Cas9 の PAM 改変体とガイド RNA、標的 DNA との複合体の結晶構造解析に成功し、PAM 認識機構を証明した。またサイズの異なる 2 種類のバクテリアの Cas9 の結晶構造を決定し、作動原理が高度に保存していることを証明した (右図)。この他に最近発見された RNA 依存性 DNA 切断酵素 CRISPR-Cpf1、ガイド RNA、標的 DNA からなる複合体の結晶構造を解明した (Hirano et al., **Mol Cell** 2016; Hirano et al., **Cell** 2016; Yamano et al., **Cell** 2016; Nishimasu et al., **Cell** 2015)。



- 公募研究③の黒柳は、リボソームタンパク質 L10a 遺伝子から産生されるスプライシングアイソフォームのノンコーディング mRNA が、機能的な mRNA の産生をコントロールしていることを発見した (Takei et al., **Nucl Acids Res** 2016)。

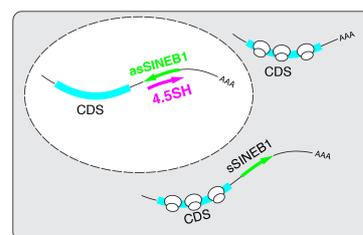
【研究項目 A02: 生理機能解析ユニット】

- 計画研究④の中川は計画研究①の廣瀬との共同研究で、核内構造体パラスペックルの骨格を作る arcRNA である Neat1 の各領域を認識するプローブで蛍光 in situ hybridization を行い、そのシグナルを超解像顕微鏡を用いて観察した。その結果、パラスペックルは特徴的な Core-Shell スフェロイド構造を持ち、Neat1 の両端が Shell 領域に、中心部分が Core 領域に分布していることが分かった (右図)。また、パラスペックルを構成するタンパク質も、それぞれの領域に特異的に分布していることが分かった (West et al., **J Cell Biol** 2016 リバイス中)。



- 計画研究④の中川は神経系に特異的に発現する高等脊椎動物特異的な ncRNA、Gomafu のノックアウトマウスを作製し、各種行動実験において基礎活動量が増加することを見出した。また、覚醒剤メタンフェタミンの連続投与に対する応答が異常に亢進し、側坐核におけるドーパミンの放出が増加していることが明らかとなった。この解析により、長鎖 ncRNA が高等脊椎動物の行動を制御していることが初めて明らかとなった (Ip et al., **Sci Rep** 2016)。
- 計画研究④の中川は計画研究①の廣瀬との共同研究で、RNA とタンパク質を同時に高感度で検出する新しい手法を開発した。この結果、ncRNA が形成する構造体の微細構造を高解像度で観察することが可能となった (Mito et al., **Methods** 2016)。

- 計画研究④の中川は計画研究②の鈴木との共同研究で、レトロトランスポゾン SINE B1 に高い相同性を示す小型齧歯類特異的な ncRNA である 4.5SH が、非翻訳領域に SINE B1 がアンチセンス方向に挿入された mRNA と核内で二本鎖 RNA 構造を形成し、核外輸送を阻害することで発現を低下させていることを明らかにした (右図)。この発見は、グローバルな遺伝子発現を制御するレトロトランスポゾン由来 ncRNA タクソンの存在を示唆した (Ishida et al., **Genes Cells** 2016)。



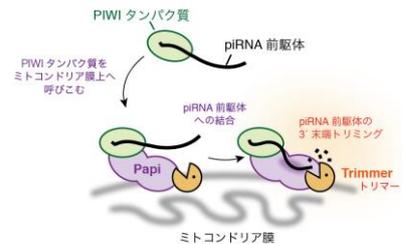
- 計画研究④の中川は計画研究①の廣瀬との共同研究で、パラスペックルの骨格として機能する Neat1 ノックアウトマウスを作製して生理機能解析を行った。その結果、外見上は以上を示さないものの、約半数のメス個体が血中のプロゲステロン濃度の低下に伴い不妊となることが明

らかとなった。この研究によって arcRNA が実際に生体内で機能していることが初めて明らかとなった。(Nakagawa et al., *Development* 2014)。

- 公募研究⑥の谷上は大腸ガン細胞で発現が亢進している長鎖 ncRNA、UPAT がエピゲノム因子 UHRF1 と結合し、そのユビキチン化を阻害することでこのタンパク質を安定化し、その結果、UHRF の標的遺伝子である SPRY4 や SCD1 などの遺伝子が活性化することで大腸ガン細胞の腫瘍形成能が維持されていることを明らかにした (Taniue et al. *PNAS* 2016)。この研究により、タンパク質と結合することによってその構造変化を誘導し、ユビキチン化等タンパク質の運命決定を制御する新規 ncRNA タクソンの存在が示唆された。

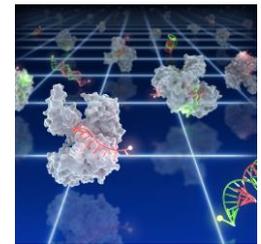
【研究項目 A03: 新技術開発ユニット】

- 計画研究⑥の泊は計画研究②の鈴木らとの共同研究により、これまで世界中で探索されてきたもののその実体が不明であった、piRNA の成熟を担う「Trimmer」と呼ばれるエクソヌクレアーゼを同定することに成功し、piRNA 生合成経路の理解を大きく進展させた (右図) (Izumi et al., *Cell* 2016)。



- 計画研究⑥の多田隈と泊は共同で、siRNA と Argonaute タンパク質によって形成された RISC が標的を認識・切断・放出する過程について一分子イメージング解析を行うことに成功し、RISC が標的 RNA を正確に切断し、さらに切断した標的 RNA を放出するしくみを明らかにした (Yao et al., *Mol Cell* 2015)。

- 計画研究⑥の泊は計画研究②の鈴木との共同研究により、ショウジョウバエの RISC 形成に必要な 7 種類のタンパク質をすべて突き止め、これらのタンパク質を混ぜ合わせることで、RISC を試験管内で再構成できることを示した。さらに、泊と多田隈の共同研究により、siRNA の二本の鎖にそれぞれ蛍光色素を導入し、再構成した RISC 形成過程を一分子観察することに初めて成功し、これまでは捉えることが不可能だった RISC 形成の詳細な過程や分子シャペロンの役割が分子レベルで明らかになった (右図) (Iwasaki et al., *Nature* 2015)。



- 計画研究⑦の浅原は、独自に最適化した CRISPR/Cas9 による遺伝子編集技術をラットに応用し、臃細胞のマスタ転写因子である Mkx のノックアウトラットを作成することで、今までマウスでは明らかにできなかった臃の発生メカニズムを解明した。また Mkx の ChIP-seq によって、ncRNA を含めた臃分化における遺伝子発現調節の基盤情報を得た (右図) (Suzuki et al., *PNAS* 2016)。



- 計画研究⑦の浅原は、脂肪分化において microRNA の一つである miR-140 が、代表的な arcRNA である NEAT1 の発現を促進するメカニズムを解析し、小分子 RNA タクソンである microRNA と arcRNA タクソンの関連を見出した (Gernapudi et al., *Mol Cell Biol.* 2015)。

- 計画研究⑦の浅原は、筋分化における新規 DNA メチル化の獲得をゲノムワイドに解析したところ、ncRNA を含めた大規模な遺伝子発現制御に転写因子 Rp58 が関与していることが明らかになった (Miyata et al., *Hum Mol Genet.* 2015)。

- 公募研究⑭の木立は、トランスクリプトームスケールで二次構造予測を行う並列二次構造アルゴリズムの実装を行い、ヒトの長大な mRNA, pre-mRNA, long non-coding RNA などに対して、計算機による完全な二次構造予測が初めて可能になった (Kawaguchi et al., *BMC Bioinformatics* 2016)。

5. 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。

本学術領域における研究成果は、以下の通り学術雑誌における論文出版を基本とし、出版物の刊行やシンポジウムの開催など、様々な方法で広く公表されている。

これまでに、平成 26 年度に発足した 7 の計画研究と平成 27 年度発足の 14 の公募研究により、128 編の原著論文(13 編の英文総説と 21 編の邦文総説を含む)が発表されており、そのうち 19 報は領域内の共著論文である。また、特に顕著な研究成果についてはプレスリリース等により積極的な発信が行われており、新聞等の国内外メディアにも 29 件掲載されている。また、本新学術領域研究のホームページ (<http://ncrna.jp/> : 通算 535,289 ページビュー) では、構成員および研究内容をわかりやすく紹介するほか、研究に関する話題をブログ形式で提供するなどの試みも行っている。

研究成果を専門分野以外の研究者にも広く周知するために、26 年度、27 年度は日本分子生物学会においてワークショップを企画した。28 年度にも本領域名を冠したシンポジウムを設け、ncRNA タクソノミ研究の啓蒙に努めるとともに、闊達な議論を集約して研究の推進に生かしたい。また、26 年度と 27 年度には、4 回の国際ミーティング(Tokyo RNA Club など)を後援し、28 年度には、東京にて海外スピーカー 17 名が参加する本領域主催の第 1 回国際シンポジウム：Clues to non-coding RNA taxonomy を開催予定である。

さらに、ncRNA タクソノミ研究の基本コンセプトと研究手法を世界に向けて発信するために領域代表者らが編者となり、当分野の気鋭の海外研究者らと共に総説集「Clues to long noncoding RNA taxonomy」(*Biochim Biophys Acta* 2015, Hirose & Nakagawa 編)と実験プロトコル集「Nuclear bodies and noncoding RNAs」(*Methods Mol Biol* 2014, Nakagawa & Hirose 編)を刊行した。また国内研究者への啓蒙として雑誌「実験医学」で、本領域計画班員が中心となって非コード RNA に関する特集号(塩見・中川・浅原編 2015 年 12 月刊行)を企画したことに加え、学生や若手研究者向けの入門書籍「ノンコーディング RNA」(廣瀬・泊編 2016 年 6 月刊行予定)を領域代表者らが編集し、本新学術領域研究の基本的なコンセプトと主要研究成果を国内外に向けて広く周知することに務めている。また、一般向けの講演会等を通し、国民との科学・技術対話も積極的に行っている。

【論文】(94 報のうち代表的なものを抜粋)

(本課題研究への謝辞を記載したものには△を、課題番号も含めて記載したものには▲を、融合研究論文には◎を付した)

研究項目 A01

計画研究

▲The Sam68 nuclear body is composed of two RNase-sensitive substructures with the adaptor HNRNPL
Mannen T, Yamashita S, Tomita K, Goshima N, *Hirose T.
J Cell Biol. 2016 in press.

△NSUN3 methylase initiates 5-formylcytidine biogenesis in human mitochondrial tRNAMet.
Nakano S, Suzuki T, Kawarada L, Iwata H, Asano K, *Suzuki T.
Nat Chem Biol. 2016 May 23. doi: 10.1038/nchembio.2099.

△Biogenesis and growth phase-dependent alteration of 5-methoxycarbonylmethoxyuridine in tRNA anticodons.

Sakai Y, Miyauchi K, Kimura S, *Suzuki T.

Nucleic Acids Res. 2016 Jan 29;44(2):509-23. doi: 10.1093/nar/gkv1470.

△Mechanism of 3'-Matured tRNA Discrimination from 3'-Immature tRNA by Class-II CCA-Adding Enzyme.

Yamashita S, *Tomita K.

Structure. 2016 Apr 27. pii: S0969-2126(16)30033-8. doi: 10.1016/j.str.2016.03.022.

▲Prion-like domains in RNA binding proteins are essential for building subnuclear paraspeckles.

Hennig S, Kong G, Mannen T, Sadowska A, Kobelke S, Blythe A, Knott GJ, Iyer KS, Ho D, Newcombe EA, Hosoki K, Goshima N, Kawaguchi T, Hatters D, Trinkle-Mulcahy L, *Hirose T, *Bond CS, *Fox AH.

J Cell Biol. 2015 Aug 17;210(4):529-39. doi: 10.1083/jcb.201504117.

△SWI/SNF chromatin-remodeling complexes function in noncoding RNA-dependent assembly of nuclear bodies.

Kawaguchi T, Tanigawa A, Naganuma T, Ohkawa Y, Souquere S, Pierron G, *Hirose T.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Apr 7;112(14):4304-9. doi: 10.1073/pnas.1423819112.

△Measurement of Acceptor-TΨC Helix Length of tRNA for Terminal A76-Addition by A-Adding Enzyme.

Yamashita S, Martinez A, *Tomita K.

Structure. 2015 May 5;23(5):830-42. doi: 10.1016/j.str.2015.03.013.

△Single methylation of 23S rRNA triggers late steps of 50S ribosomal subunit assembly

Arai, T., Ishiguro, K., Kimura, S., Sakaguchi, Y., Suzuki, T. and *Suzuki, T.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 112, E4707-E4716 (2015)

◎△Somatic Primary piRNA Biogenesis Driven by cis-Acting RNA Elements and trans-Acting Yb.

Ishizu H, Iwasaki YW, Hirakata S, Ozaki H, Iwasaki W, Siomi H, *Siomi MC.

Cell Rep. 2015 Jul 21;12(3):429-40. doi: 10.1016/j.celrep.2015.06.035.

△Exportin-5 mediates nuclear export of SRP RNA in vertebrates.

Takeiwa T, Taniguchi I, *Ohno M.

Genes Cells. 2015 Apr;20(4):281-91. doi: 10.1111/gtc.12218.

△Human NAT10 is an ATP-dependent RNA acetyltransferase responsible for N4-acetylcytidine formation in 18 S ribosomal RNA (rRNA).

Ito S, Horikawa S, Suzuki T, Kawauchi H, Tanaka Y, Suzuki T, *Suzuki T.

J Biol Chem. 2014 Dec 26;289(52):35724-30. doi: 10.1074/jbc.C114.602698.

△A single acetylation of 18S A single acetylation of 18 S rRNA is essential for biogenesis of the small ribosomal subunit in *Saccharomyces cerevisiae*.

Ito S, Akamatsu Y, Noma A, Kimura S, Miyauchi K, Ikeuchi Y, Suzuki T, *Suzuki T.

J Biol Chem. 2014 Sep 19;289(38):26201-12. doi: 10.1074/jbc.M114.593996.

◎△Yb integrates piRNA intermediates and processing factors into perinuclear bodies to enhance piRISC assembly.

Murota Y, Ishizu H, Nakagawa S, Iwasaki YW, Shibata S, Kamatani MK, Saito K, Okano H, Siomi H, Siomi MC.

Cell Rep. 2014 Jul 10;8(1):103-13. doi: 10.1016/j.celrep.2014.05.043.

公募研究

▲Structural Basis for the Altered PAM Specificities of Engineered CRISPR-Cas9.

Hirano S, *Nishimasu H, Ishitani R, *Nureki O.

Mol Cell. 2016 Mar 17;61(6):886-94. doi: 10.1016/j.molcel.2016.02.018.

▲Evolutionarily conserved autoregulation of alternative pre-mRNA splicing by ribosomal protein L10a.

Takei S, Togo-Ohno M, Suzuki Y, *Kuroyanagi H.

Nucleic Acids Res. 2016 Mar 9. pii: gkw152.

▲Structure and Engineering of Francisella novicida Cas9.

Hirano H, Gootenberg JS, Horii T, Abudayyeh OO, Kimura M, Hsu PD, Nakane T, Ishitani R, Hatada I, Zhang F, *Nishimasu H, *Nureki O.

Cell. 2016 Feb 25;164(5):950-61. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.039.

▲Crystal Structure of Staphylococcus aureus Cas9.

Nishimasu H, Cong L, Yan WX, Ran FA, Zetsche B, Li Y, Kurabayashi A, Ishitani R, *Zhang F, *Nureki O.

Cell. 2015 Aug 27;162(5):1113-26. doi: 10.1016/j.cell.2015.08.007.

研究項目 A02

計画研究

◎▲Gomafu lncRNA knockout mice exhibit mild hyperactivity with enhanced responsiveness to the psychostimulant methamphetamine. Ip JY, Sone M, Nashiki C, Pan Q, Kitaichi K, Yanaka K, Abe T, Takao K, Miyakawa T, Blencowe BJ and *Nakagawa S.

Sci Rep. 2016 Jun 2;6:27204. doi: 10.1038/srep27204.

▲Simultaneous multicolor detection of RNA and proteins using super-resolution microscopy.

Mito M, Kawaguchi T, Hirose T, *Nakagawa S.

Methods. 2016 Apr 1;98:158-65. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.11.007.

◎△Regulation of gene expression via retrotransposon insertions and the noncoding RNA 4.5S RNAH.

Ishida K, Miyauchi K, Kimura Y, Mito M, Okada S, Suzuki T, *Nakagawa S.

Genes Cells. 2015 Nov;20(11):887-901. doi: 10.1111/gtc.12280.

△The lncRNA Neat1 is required for corpus luteum formation and the establishment of pregnancy in a subpopulation of mice.

*Nakagawa S, Shimada M, Yanaka K, Mito M, Arai T, Takahashi E, Fujita Y, Fujimori T, Standaert L, Marine JC, Hirose T.

Development. 2014 Dec;141(23):4618-27. doi: 10.1242/dev.110544.

Pri peptides are mediators of ecdysone for the temporal control of development.

Chanut-Delalande H, Hashimoto Y, Pelissier-Monier A, Spokony R, Dib A, Kondo T, Bohère J, Niimi K, Latapie Y, Inagaki S, Dubois L, Valenti P, Polesello C, Kobayashi S, Moussian B, White KP, Plaza S, *Kageyama Y, *Payre F.

Nat Cell Biol. 2014 Nov;16(11):1035-44. doi: 10.1038/ncb3052.

公募研究

▲Regulation of ecmF gene expression and genetic hierarchy among STATA, CudA, and MybC on several prestalk A-specific gene expressions in Dictyostelium.

Saga Y, Inamura T, Shimada N, *Kawata T.

Dev Growth Differ. 2016 May;58(4):383-99. doi: 10.1111/dgd.12285.

Sequence Conservation and Sexually Dimorphic Expression of the Ftz-F1 Gene in the Crustacean Daphnia magna.

Mohamad Ishak NS, *Kato Y, Matsuura T, Watanabe H.

PLoS One. 2016 May 3;11(5):e0154636. doi: 10.1371/journal.pone.0154636.

Long noncoding RNA UPAT promotes colon tumorigenesis by inhibiting degradation of UHRF1.

Taniue K, Kurimoto A, Sugimasa H, Nasu E, Takeda Y, Iwasaki K, Nagashima T, Okada-Hatakeyama M, Oyama M, Kozuka-Hata H, Hiyoshi M, Kitayama J, Negishi L, Kawasaki Y, *Akiyama T.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Feb 2;113(5):1273-8. doi: 10.1073/pnas.1500992113.

研究項目 A03

計画研究

▲Gene targeting of the transcription factor Mohawk in rats causes heterotopic ossification of Achilles tendon via failed tenogenesis.

Suzuki H, Ito Y, Shinohara M, Yamashita S, Ichinose S, Kishida A, Oyaizu T, Kayama T, Nakamichi R, Koda N, Yagishita K, Lotz M, Okawa A, *Asahara H.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 in press.

▲Gtf2ird1-Dependent Mohawk Expression Regulates Mechanosensing Properties of the Tendon.

Kayama T, Mori M, Ito Y, Matsushima T, Nakamichi R, Suzuki H, Ichinose S, Saito M, Marumo K, *Asahara H.

Mol Cell Biol. 2016 Mar 31;36(8):1297-309. doi: 10.1128/MCB.00950-15.

◎△Identification and Functional Analysis of the Pre-piRNA 3' Trimmer in Silkworms.

Izumi N, Shoji K, Sakaguchi Y, Honda S, Kirino Y, Suzuki T., Katsuma S, *Tomari Y.

Cell. 2016 Feb 25;164(5):962-73. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.008.

◎△Single-Molecule Analysis of the Target Cleavage Reaction by the Drosophila RNAi Enzyme Complex.

Yao C, Sasaki HM, Ueda T, *Tomari Y., *Tadakuma H.

Mol Cell. 2015 Jul 2;59(1):125-32. doi: 10.1016/j.molcel.2015.05.015.

◎△Defining fundamental steps in the assembly of the Drosophila RNAi enzyme complex.

Iwasaki S, Sasaki HM, Sakaguchi Y, Suzuki T., *Tadakuma H., *Tomari Y.

Nature. 2015 May 28;521(7553):533-6. doi: 10.1038/nature14254.

DNA methylation analysis of human myoblasts during in vitro myogenic differentiation: de novo methylation of promoters of muscle-related genes and its involvement in transcriptional down-regulation.

Miyata K, Miyata T, Nakabayashi K, Okamura K, Naito M, Kawai T, Takada S, Kato K, Miyamoto S, Hata K, *Asahara H.

Hum Mol Genet. 2015 Jan 15;24(2):410-23. doi: 10.1093/hmg/ddu457.

◎▲The initial uridine of primary piRNAs does not create the tenth adenine that is the hallmark of secondary piRNAs.

Wang W, Yoshikawa M, Han BW, Izumi N, *Tomari Y., *Weng Z., *Zamore PD.

Mol Cell. 2014 Dec 4;56(5):708-16. doi: 10.1016/j.molcel.2014.10.016.

△MicroRNAs block assembly of eIF4F translation initiation complex in Drosophila.

Fukaya T, Iwakawa HO, *Tomari Y.

Mol Cell. 2014 Oct 2;56(1):67-78. doi: 10.1016/j.molcel.2014.09.004.

公募研究

▲Parallel computation of genome-scale RNA secondary structure to detect structural constraints on human genome.

Kawaguchi R, *Kiryu H.

BMC Bioinformatics. 2016 May 6;17(1):203. doi: 10.1186/s12859-016-1067-9.

【英文総説】(13報のうち代表的なものを抜粋)

△RNA modifications: what have we learned and where are we headed?

Frye, M., Jaffrey, S., Pan, T., Rechavi, G. and Suzuki, T.

Nature Rev Genet., in press (2016)

Clues to long noncoding RNA taxonomy.

*Hirose T., Nakagawa S.

Biochim Biophys Acta. 2016 Jan;1859(1):1-2. doi: 10.1016/j.bbagr.2015.11.011.

△Architectural RNAs (arcRNAs): A class of long noncoding RNAs that function as the scaffold of nuclear

bodies.

Chujo T, Yamazaki T, *Hirose T.

Biochim Biophys Acta. 2016 Jan;1859(1):139-46. doi: 10.1016/j.bbagr.2015.05.007.

△The Functions of MicroRNAs: mRNA Decay and Translational Repression.

Iwakawa HO, *Tomari Y.

Trends Cell Biol. 2015 Nov;25(11):651-65. doi: 10.1016/j.tcb.2015.07.011.

△PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions.

Iwasaki YW, *Siomi MC, *Siomi H.

Annu Rev Biochem. 2015;84:405-33. doi: 10.1146/annurev-biochem-060614-034258.

【英文・和文出版物の刊行】

「Clues to long noncoding RNA taxonomy」 *Biochimica et Biophysica Acta* 誌特集号 (2016年1月刊行)
廣瀬・中川編

「Nuclear bodies and Noncoding RNAs –Methods and Protocols-」 *Methods in Molecular Biology* (1262)
(2015年3月刊行) 中川・廣瀬編

「ノンコーディング RNA—RNA分子の全体像を俯瞰する—」化学同人 DOJIN BIOSCIENCE SERIES
(2016年6月発行予定) 廣瀬・泊編

「ノンコーディング RNA テキストブック」実験医学増刊 (2015年12月刊行) 塩見・中川・浅原編

【シンポジウムの開催】

第1回国際シンポジウム「Clues to Non-coding RNA Taxonomy」 2016年6月27日 東京 (予定)

第19回 Tokyo RNA Club 2016年4月12日 東京 (後援)

第18回 Tokyo RNA Club 2016年1月14日 東京 (後援)

第17回 Tokyo RNA Club 2015年6月16日 東京 (後援)

第16回 Tokyo RNA Club 2014年11月28日 東京 (後援)

第15回 Tokyo RNA Club 2014年10月1日 和光 (後援)

RNA フロンティアミーティング 2015 2015年12月8~10日 蔵王 (後援)

RNA フロンティアミーティング 2014 2014年9月16~18日 白浜 (後援)

第39回日本分子生物学会シンポジウム、ワークショップ 2015年12月1日 神戸 (後援)

第17回日本RNA学会シンポジウム 2015年7月15日 札幌 (後援)

【アウトリーチ活動】

廣瀬哲郎：札幌北高校職場訪問セミナー 2015年1月7日、2016年1月6日

廣瀬哲郎：北海道地区生涯教育講演会 2015年3月8日

大野睦人：第72回京都大学丸の内セミナー 2016年7月1日 (予定)

泊幸秀：中学生を対象にした研究室滞在型実験体験ゼミ 2014年8月、2015年8月

泊幸秀：読売新聞「マイクロRNA 細胞の増殖に『陰の司令塔』」 2014年12月21日

泊幸秀：NHKサイエンスZERO「がんも!老化も!? 生命を操るマイクロRNA」 2015年2月22日

岩崎由香：愛知県立明和高校スーパーサイエンスハイスクール講演 2015年7月31日

岩崎由香：早稲田塾バイオプログラム講演 2015年6月28日

黒柳秀人：東京都立日比谷高校のSSH分子生物学講座講演 2015年7月21日

西増弘志：化学への招待—講演会 2016 2016年2月6日

6. 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、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。

【連携状況の概要】

本領域では、7名の計画研究代表者及び2名の分担者、14名の公募研究代表者が、A01~03の研究項目に分かれて、互いに有機的に連携しつつ研究を推進している。これまでに2回の領域会議を開催し、研究者間の相互理解とともに密な議論を行なった。また総括班が領域の共有機器として設置した超解像顕微鏡については、班員が障壁なく利用できるように3回の技術講習会を開催し、さらに実験ノウハウを領域ホームページに公表している。また領域班員の有する実験技術プロトコル集を編集・出版した。

以下にまとめたように、計画班員と公募班員の全員が何らかの形で領域内での研究連携に関わっている。特に、上記超解像顕微鏡の利用についての連携、独特な ncRNA 機能や作用機構についての技術提供や実験手法についてのアドバイスなど密接な交流が行われている。また、異なる研究項目に属する計画班員の間だけでなく、計画研究と公募研究との間の連携も盛んに行なわれている。すなわち、異なるバックグラウンドを持つ研究者が協力・連携し合い研究を遂行する研究体制が整いつつある。すでに、廣瀬と富田、廣瀬と中川、塩見と中川、泊と多田隈、泊と鈴木などから合計19報の共著論文が発表されており、今後も多くの共同研究の進展が期待される。研究計画後半では、これまで行なってきた研究連携体制を維持するとともに、新たな連携の核になるような次世代シーケンサーから得られる膨大なデータを解析する技術等の共有により、領域内における連携体制をさらに強固にする予定である。

研究者		情報・技術の提供元																								
		計画研究										公募研究														
		廣瀬	富田	鈴木	塩見	大野	中川	影山	泊	多田隈	浅原	長尾	西増	黒柳	岩崎	河岡	谷上	小林	堀家	河原	加藤	川田	小宮	堀	木立	
計画研究	廣瀬	■																								
	富田	■	■																							
	鈴木		■	■																						
	塩見				■																					
	大野					■																				
	中川						■																			
	影山							■																		
	泊								■																	
	多田隈									■																
	浅原										■															
公募研究	長尾																								■	
	西増																									
	黒柳																									
	岩崎																									
	河岡																									
	谷上																									
	小林																									
	堀家																									
	河原																								■	
	加藤																									
川田																										
小宮																										
堀																										
木立																										

【連携の具体的内容】

- 廣瀬⇔富田：RNA 結合タンパク質の構造モデルと結晶化に関する共同研究
- 廣瀬⇔大野：核内構造体因子の調整プロトコールと cDNA ライブラリーの提供
- 廣瀬⇔中川：lncRNA の作用機構や生体機能に関する共同研究、超解像顕微鏡観察に関する技術支援
- 廣瀬⇔泊：領域基本概念についての英文総説の共同執筆
- 廣瀬⇔浅原：核内構造体局在因子のハイスループットスクリーニングの共同研究
- 廣瀬⇔長尾：合同研究室セミナーの開催と意見交換
- 廣瀬⇔谷上：合同ミーティングの開催と意見交換
- 廣瀬⇔堀家：染色体ペインティングプローブに関する情報提供
- 廣瀬⇔加藤：lncRNA 作用メカニズムに関する助言、国際学会の情報提供
- 廣瀬⇔木立：ncRNA 構造体の標的遺伝子クラスターについての共同研究
- 鈴木⇔富田：tRNA 修飾酵素の構造機構解析に関する共同研究
- 鈴木⇔中川：In situ hybridization、超解像顕微鏡観察に関する助言
- 鈴木⇔泊：プロテオミクス解析支援
- 鈴木⇔黒柳：原核生物 tRNA の転写後修飾に関する助言
- 鈴木⇔大野：RNA 輸送因子に関する助言
- 塩見⇔中川：RNA-FISH に関する共同研究
- 塩見⇔泊：RNA サイレンシング関連因子抗体の提供
- 塩見⇔西増：PIWI の結晶構造解析
- 塩見⇔岩崎：piRNA 機能解析についての共同研究
- 大野⇔中川：RNA-FISH の技術指導及びノンコーディング RNA 検出プローブの提供
- 中川⇔影山：超解像顕微鏡観察を用いた ncRNA 局在解析の共同研究
- 中川⇔浅原：超解像顕微鏡観察に関する助言
- 中川⇔長尾：超解像顕微鏡観察に関する資料提供と意見交換
- 中川⇔黒柳：哺乳類特異的核内 ncRNA の機能を線虫で解析する共同研究
- 中川⇔谷上：In situ hybridization、超解像顕微鏡観察に関する助言
- 中川⇔岩崎：超解像顕微鏡観察に関する助言
- 中川⇔小林：RNA-FISH に関する助言、技術指導
- 中川⇔堀家：In situ hybridization、超解像顕微鏡観察に関する助言
- 中川⇔加藤：In situ hybridization、超解像顕微鏡観察に関する助言
- 中川⇔川田：In situ hybridization、超解像顕微鏡観察に関する助言
- 中川⇔小宮：DNA-FISH に関する助言
- 中川⇔堀：総説執筆用の情報提供
- 泊⇔多田隈：RISC 関連因子の一分子イメージングに関する共同研究
- 泊⇔西増：Argonaute の作動機構に関する情報提供
- 泊⇔谷上：タンパク質翻訳解析に関する助言、合同ミーティングの開催
- 浅原⇔黒柳：遺伝子改変マウス作製に関する助言
- 長尾⇔堀：ChIP-seq 解析に関する助言
- 河岡⇔小宮：モチーフ解析に関する助言
- 堀家⇔小宮：DNA-FISH に関する情報提供
- 河原⇔木立：PAR-CLIP 解析における情報解析に関する助言

7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ以内）

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。

【若手研究者の育成に係る取組状況】

RNA 関連の若手研究者の会として毎年開催されている「RNA フロンティアミーティング」を後援し、開催費の一部を総括班費からサポートした。平成 26 年度には和歌山県白浜にて、また平成 27 年度には山形県蔵王において開催され、領域内の多くの若手研究者が研究成果を口頭発表し、活発な討論が行われた。北海道ニセコにて開催が予定されている平成 28 年度のミーティングも後援予定である。

若手研究者の国際学会への参加と発表を促進するために、総括班において「若手フェローシップ制度」を設け、これまで 14 名の若手研究者の海外学会での発表をサポートし、海外での見聞を広げることに貢献した。また支援を受けた若手研究者には、学会見聞録の執筆をしてもらい、これらは領域ホームページのブログにて公開した。平成 28 年度も領域内で募集を開始している。

著名な海外研究者の来日にあわせて、若手研究者が同じ場で発表・交流できる機会を設けるため、本領域の関連研究集会である Tokyo RNA club meeting を計 4 回後援し、開催費を総括班費からサポートした。平成 26 年度には、10 月に西オーストラリア大の A. Fox 博士、C. Bond 教授、デンマーク・アーハス大学の T. Hansen 教授、また平成 27 年度には、4 月にカナダ・マクギル大学の Nahum Sonnenberg 教授、1 月にはノーベル化学賞受賞者で英国 MRC の V. Ramakrishnan 教授、また平成 28 年度には、4 月米国マサチューセッツ大の Erik Sontheimer 教授、MIT の Wendy Gilbert 教授、ドイツマックスプランク研究所の Utz Fisher 教授、英国ダンディ大学の David Lilley 教授をそれぞれ迎えたミーティングを開催した。いずれのミーティングにおいても、領域関連の若手研究者が共に講演し、有益な交流をすることができた。

【研究に参画した学生・若手研究者の受賞等】

- New Investigator Recognition Award (NIRA) winner. Orthopaedic Research Society 2016 Annual Meeting. 2016 年 3 月. (大学院生 嘉山智大)
- IBMS Herbert Fleisch Workshop Travel Award 2015 日本骨代謝学会 2015 年 12 月 (大学院生 幸田直己)
- 優秀ポスター賞受賞 第 74 回日本矯正歯科学会学術大会 2015 年 11 月 (大学院生 幸田直己)
- 最優秀演題賞一般演題口演の部 第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会 2015 年 10 月 (大学院生 内藤昌志)
- ANZBMS 2015 travel award 第 33 回日本骨代謝学会 2015 年 7 月 (大学院生 幸田直己)
- 2015 年度日本細胞性粘菌学会若手奨励賞 (村本哲哉)

【班員の受賞・職位の昇格等】

- 廣瀬哲郎：北海道大学総長研究賞受賞（2016 年 2 月）
- 中川真一：北海道大学薬学研究院教授に着任（2016 年 5 月）
- 富田耕造：東京大学新領域創成科学研究科教授に着任（2016 年 4 月）
- 浅原弘嗣：Award for “Excellence in Basic, Clinical and Translational Science” 受賞（2015 年）

8. 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総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

【研究支援活動のための共通機器の設置】

本領域では、これまで不足していた細胞学的な視点を積極的に導入して ncRNA ネオタクソノミ研究を進展させるために、平面分解能 50 nm 程度の性能を持つ超解像顕微鏡(Carl Zeiss 社製 ELYRA PS.1) を平成 26 年 11 月に総括班費から購入し、領域内での研究支援活動を行うための共通機器として領域班員が利用する上での利便性を考慮して、東京大学分子細胞生物学研究所の専用スペースに設置した。また、領域ウェブサイトの詳細なプロトコルやノウハウを広く公開するとともに、専用の予約システムを実装し、スムーズな共同利用が可能な状態に整備した。さらに超解像顕微鏡の技術講習会を、設置直後を含めてこれまでに 3 度開催している。特に、平成 27 年 9 月には公募研究者を含めて 12 名が参加し、2 泊 3 日の日程で各自が研究対象とするサンプルを持ち寄り、ncRNA の in situ ハイブリダイゼーションから超解像顕微鏡観察までの一連の作業を実際に行った。本機器のこれまでの使用回数は 157 回に上り、ncRNA の微細構造の観察に広く有効活用されている。

【領域会議の開催】

領域発足後の平成 26 年 12 月、本領域全体の方向性と今後の研究方針を確認するために、総括班全員が参加する第一回領域会議を開催した。その際、採択時の所見に基づき、データの体系的整理やゲノム科学的な視点から ncRNA タクソンを探索する研究者、そして将来が期待される若手研究者を、公募研究として積極的に採択する必要性を、総括班全体で共有した。また、2015 年 6 月には、公募研究者および学生や研究員などの研究協力者を含め、規模を大きく広げた第二回領域会議を開催し、闊達な議論を行った。

【領域ウェブサイトの開設】

インターネット上での情報発信および広報を目的としたウェブサイト「ncrna.jp」を開設した。本ウェブサイトでは、研究成果の分かりやすい紹介や、国際学会のミーティングレポート、班員全員による持ち回りエッセイなど、様々な工夫を凝らしながら、広く情報発信に努めている。さらに、超解像顕微鏡の使用上のコツや、次世代シーケンシングデータの解析プロトコルなど、領域内で蓄積し続けるノウハウをウェブサイト上で広く公開している。1 ヶ月当たりの平均訪問者数は 5,756 人(通算 115,110 人)、ページビューは 1 ヶ月当たり 26,764 ページ(通算 535,289 ページ)であり、日本のみならずアメリカ・イギリス・オーストラリア・フランス・中国等からも多数訪問されている。このように、本領域では、ニュースレター等の印刷・送付に代えて、新しい Web 技術を活用することにより、低コストかつ効果的な情報発信を行っている。

【若手研究者の国際学会への参加支援】

成果発表と情報収集のための「若手フェロウシップ」制度を設け、国際学会への参加支援を積極的に行っている。若手研究者育成の観点から、若手の公募研究者や学生やポスドク等の研究協力者も支援の対象とし、これまでに 14 人の支援を行った。

【研究集会の開催】

当該分野の最新情報を互いに交換し議論を行うことを目的に、海外から著名な関連研究者を招聘し、これまで 4 回の中規模な国際研究集会を開催した。例えば、平成 26 年 10 月に開催したシンポジウムでは、代表的な arcRNA 作動装置であるパラスペックルを発見した Archa Fox や、miRNA スポンジとして働く circular RNA を発見した Thomas Hansen などが一堂に会し、様々な ncRNA タクソンについて白熱した議論を行った。また、分子生物学会等での国際ワークショップおよび将来を担う若い人材の育成を目的とした「RNA フロンティアミーティング」を毎年後援している。

9. 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。

以下の総括班評価者からは、機会のあるごとに領域の運営に関する貴重な助言や、個々の研究についての批判的かつ建設的な意見をいただいた。

阿形 清和 学習院大学理学部 教授
浅井 潔 東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授
佐々木 裕之 九州大学生体防御医学研究所 教授
山本 正幸 基礎生物学研究所 所長

本領域終了後の平成 28 年 6 月上旬に、本領域の研究成果等の資料を上記評価者に送付し、中間評価をお願いした結果を以下にまとめる。

【総合所見】

A+: 研究領域の設定目的に照らして、期待以上の成果があった 2名 (阿形・浅井)

A : 研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの成果があった 2名 (佐々木・山本)

A-: 研究領域の設定目的に照らして、概ね期待どおりの成果があったが、一部に遅れが認められた 0名

B : 研究領域の設定目的に照らして、十分ではなかったが一応の成果があった 0名

C : 十分な成果があったとは言い難い 0名

【研究領域の設定目的の達成度】

- 本研究班は、ジャンク RNA と思われてきた ncRNA を体系的に整理することを大きな目標として掲げた、新学術領域にふさわしい研究班と言える。そして、すでに①核内構造をつくる ncRNA/タンパク質・複合体の構成成分解析および超高解像度顕微鏡を用いての構造解析、②クロマチン構造制御に関わる新規の ncRNA の同定、に成功している。また、新技術開発ユニットを創ることで、網羅的な RNA・タンパク質複合体の解析や一分子イメージングに成功しており、中間評価としては十分な成果を挙げている。(阿形)
- すべての研究ユニットで、目的に沿って着実に研究が進展している。動作エレメントの同定を目指す A01 ユニットでは、arcRNA 動作装置形成の分子メカニズムの解明に進展が見られ、新たな arcRNA 候補の発見、rRNA、tRNA における化学修飾の機能的重要性の検証にも成功した。生理機能の解析を行う A02 ユニットでは、変異個体での表現型の観察によって Neat1 (マウス)、新規 ncRNA である lol (ショウジョウバエ) の機能解析に進展が見られた。また、超解像顕微鏡を活用した核内構造体の微細構造の観察も着実に進展した。新技術開発を担当する A03 ユニットでは、ハイコンテンツ顕微鏡システムによる関連タンパク質の局在観察、RISC における siRNA の挙動の一分子イメージングによる観察に成功した。(浅井)
- ncRNA ワールドは爆発的に拡大しており、それらの構造・機能を整理して理解することは生物学上の急務と見なされ、まさに時宜を得た新学術領域である。領域代表者の廣瀬ら若手実力者が中心となり、作動エレメント同定、生理機能解析、技術開発の3つの研究項目(ユニット)を立てて研究を進めている。(佐々木)
- 3つの研究項目 A01, A02, A03 がほぼバランスよく順調に進展している。指摘を受けた事項にも誠実に対応しようとしている。(山本)

【研究成果】

- 採択難易度の極めて高い論文誌に 90 報以上の論文を発表しており、高く評価することができる。(浅井)

- 領域の前半において廣瀬らは早くも独自の発見に基づいて architectural RNA (arcRNA) 分類群を提唱し、また泊、鈴木、多田隈らの計画班員が新技術を駆使して小分子 RNA 生成・作動のメカニズムを世界に先駆けて明らかにするなど (Cell、Nature に掲載)、順調に成果をあげている。また、実力者による権威ある総説の執筆や、公募班員によるゲノム編集関連の構造解析 (Cell に掲載) などのハイインパクトの成果があった。(佐々木)
- 個別の研究では国際的に評価されうる研究成果がいくつも認められる。研究ごとに進捗の多少のばらつきはやむを得ないが、全体としては期待されるレベルの成果を挙げている。(山本)

【研究組織】

- 領域内でいくつかの共同研究が行われ、19 報の論文発表もされている。個々の研究の進展に従い、情報・技術が領域内で共有されて活用されることが期待される。(浅井)
- 特筆すべきは発表された論文の約 2 割 (19/107 報) が領域内の共著で、さらに公募班員を含めたすべてのグループが領域内連携を実施していることであろう (連携状況の項)。チームを編成して新たな学術領域を作る本制度の趣旨を実現している。(佐々木)
- 研究組織内の連携は密であり、実質的な共同研究も進んでいる。公募研究における若年者の採択、若手研究者交流の支援など、若手研究者の育成にも努力が払われている。(山本)

【研究費の使用】

- 超解像顕微鏡は有効に活用されて成果を生み出しており、運用方法にも工夫がみられる。(浅井)
- 共通設備として購入された超解像顕微鏡も中川らを中心に班員間で有効に活用されている。(佐々木)
- 適切に運営されている。(山本)

【今後の研究領域の推進方策】

- 個々の研究のレベルは極めて高く、このまま順調に推移すれば、RNA 研究に画期的な進展をもたらすことが期待できる。一方で、ゲノム科学的視点での研究は重視されているとは言えない。個々の ncRNA を精密に解析することも必要だが、「RNA タクソノミ」を明らかにするためには、より多くの対象に対する大規模な解析を行う実験・バイオインフォマティクスの手法を開発していく必要があると考えられる。(浅井)
- 採択時に指摘された「データの体系的整理を担当する研究者やゲノム科学的な視点から新規タクソノミを探索する研究者の必要性」については、公募班員の採用で補充されたため問題ない。国際シンポジウム開催、若手支援、アウトリーチ活動も活発に行われており、社会貢献や教育活動はこのペースでいけば十分であろう。(佐々木)
- 計画研究代表者を中心に、研究能力の高い研究者が集まっており、個別の研究で世界の先端に行く成果が出ることは十分期待できる。最大の課題は、記載されているように、領域の標題に恥じない ncRNA タクソンを確立することである。個別研究の集合ではなく、新たなタクソノミといえるものに到達するためには、領域代表者の十分な目配りと、計画研究代表者間の緊密な連携が不可欠であろう。高いポテンシャルをもつ新学術領域研究であるので、大きなまとまりを期待したい。(山本)
- 若手中心の研究班なので、後半戦においても、前半戦でみられた研究ペースを落とすことなく研究を展開してくれるものと期待している。難溶性 RNA の網羅的解析など、これからも世界のフロンティアとして展開できる研究アイデアも盛り込まれており、今後の研究展開についてもワクワク感をもって見守っていきたい。(阿形)

10. 今後の研究領域の推進方策（2ページ以内）

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についても記述してください。

【研究の推進】

今後の本領域の方向性は、A01~A03の研究項目毎の研究をより深く掘り下げていくのと同時に、研究項目毎の成果を統合し、作動エレメントから生体機能までを一貫させた ncRNA タクソンの確立を目指すことにある。このためには、個々の研究者の努力を支援すると同時に、過不足ない予算配分を行うことにより、効果的な研究の推進を目指す。特に、いくつかの研究課題においては、現時点までに研究成果発表に至っていないまでも、特筆すべき発見がなされているものも含まれている。これらの研究を効果的に後押しし、成果として結実させるためには、領域として戦略的に支援することが肝要である。そこで、総括班と国際活動支援班の予算を柔軟に活用することにより、高度な技術の取得や特殊な設備の利用等、研究遂行上必要となる国内・外国旅費の支援や、勉強会の開催、各種研修会への参加支援など、積極的な対応を行う。RNA ネオタクソノミの実現のために今後重要性が増すことが想定されるゲノム科学的視点の大規模な解析やその手法の開発については、引き続き公募研究を活用し、計画研究で得られた成果を ncRNA タクソンの確立に結びつける研究を加速させる

また、領域を組織する最も重要な意義は、班員同士が協力し合うことによって、個々の班員の研究を相乗的に促進することである。すでに協力体制を確立している班員の共同研究は引き続き強力に推進するとともに、さらに新たな共同研究の可能性を探索し、より多くの協力関係を確立することを目指す。そのために、領域会議やホームページ、メーリングリストなどにおいて、各班員が有する個々の技術、リソースなどの情報を共有して、班員各人が最大限に研究を推進できる協力体制の構築を促進する。また班員間の共同研究によって生み出された成果を論文発表する際には、雑誌への掲載料及びオープンアクセスオプションにかかる費用を総括班がサポートする制度を設けて、共同研究の成果発信を推進する。

またすでに実用化している領域共用機器の超解像顕微鏡については、これまで以上に積極的な技術支援を行いたい。

【国際活動】

本領域では、これまでに海外研究者を交えたシンポジウム（Tokyo RNA Club meeting）の開催を後援し、著名な海外研究者と領域班員及び関連若手研究員との交流の場を設けてきたが、こうした活動が、領域活動推進と情報発信に非常に有益であったことを踏まえて、今後さらなる海外研究者との交流事業を開催していく予定である。まず第1回目の本領域主催の国際シンポジウムを2016年6月末に東京にて開催することを予定している。本シンポジウムは、ノンコーディング RNA 研究を網羅する内容で、Ingrid Grummt、Phil Zamoreをはじめとした多数の世界の一流研究者を迎えている。また23名の講演者中17名が海外研究者、また5/24の時点で参加登録済みの海外研究者が30名以上、という非常に国際色の強い内容である。また領域活動の最終年度である2019年には、本領域主催の第2回国際シンポジウムを札幌で開催する予定で、現在準備中である。これらの国際シンポジウムは、



Time	Speaker	Time	Speaker
9:00	Opening Remark	14:40	Phillip Zamore
Session 1: LncRNA			
9:05	Tetsuro Hirose	15:10	Coffee Break
9:20	Archa Fox	15:35	Yijun Qi
9:35	Charlie Bond	15:55	Yohei Kirino
9:50	Subhash Lakhota	16:10	Julie Claycomb
		16:25	Jinbiao Ma
10:05	Ingrid Grummt	16:40	Yukihide Tomari
10:35	Coffee Break	16:55	Coffee Break
11:00	Saba Valadkhan	Session 3: New Technologies for ncRNA Research	
11:20	Lingling Chen	17:20	Thomas Preiss
11:40	Yuji Kageyama	17:40	Shintaro Iwasaki
11:55	Piero Carninci	17:55	Hervé Seitz
		18:10	Shinichi Nakagawa
12:10	Lunch		
Session 2: Small RNA			
13:40	Olivia Risland	18:25	Closing Remark
13:55	Martin Simard	19:00	Social hour w/ light bites
15:10	Stefan Ameres		
14:25	Yuka Iwasaki		

海外の研究者との情報交換を強化するとともに、共同研究の契機となることが期待される。この他にも国内の関連学会（日本分子生物学会、日本 RNA 学会など）に海外の著名な研究者を積極的に招聘し、その前後で領域班員と交流する機会を設けている。ノンコーディング RNA ネオタクソノミ研究は、世界的に見ても未だ明確な潮流が確立されておらず、上記国際シンポジウムや国内学会への招聘とその際の啓蒙活動の意義は大きいと思われる。2016 年度の日本分子生物学会シンポジウムやワークショップにも、William Theurkauf、Eric Lai、Chris Marine など、海外から著名な ncRNA 研究者を招聘し、領域班員と交流する機会を設ける予定である。

【若手支援】

本領域では、これまでに若手支援を重要な取り組みとして捉え、積極的に実践してきた。毎年 RNA 関連分野の若手研究者の会として開催される「RNA フロンティアミーティング」を、引き続き後援し若手研究者同士の交流を深め、次世代の人材育成を推進する。また、すでに2年間に渡り領域が実施してきた領域関連若手研究者の海外学会への派遣を推進するための「若手フェローシップ制度」を継続して、より多くの若手研究者に海外学会で発表する機会を与え、国際経験を積ませることを推進していく。さらに、上記国際共同研究先によって確立された関係を有効に利用して、若手研究者を共同研究相手先の研究機関に派遣し、一定期間滞在して共同研究を推進する役割を果たす機会を設ける。これによって学会に出席するだけでは得られない国際感覚を身につけることを推進する。

【公募班員や共同研究者の役割】

上述のとおり、バイオインフォマティクス解析の研究者を引き続き公募研究班員として採択し、計画班員を中心に得られた ncRNA の作動エレメントに関する情報を基に、類似の作動エレメントの存在を複数の生物種ゲノムから体系的に同定するための取り組みを加速する。また電子顕微鏡、次世代シーケンサー、質量分析装置といった最先端機器、ゲノム編集などの最新実験技術に精通した研究者や、ncRNA の疾患への関わりを研究するための医学系研究者を公募研究者として積極的に採択したい。また、先端的技術を有する海外の研究者との国際共同研究を積極的に推進する。以上の様な連携を通じて、本領域の目的を実現する体制を整備する。