

領域略称名：ゲノム普遍的制御
領域番号：3222

平成27年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「ゲノム複製・修復・転写のカップリングと
普遍的なクロマチン構造変換機構」

(領域設定期間)

平成22年度～平成26年度

平成27年6月

領域代表者 (学習院大学・理学部・教授・花岡 文雄)

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	6
2. 研究領域の設定目的の達成度	8
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	11
4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況	12
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	14
6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	18
7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	25
8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	26
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	30
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	31
11. 総括班評価者による評価	32

研究組織

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	22131001 ゲノム複製・修復・転写のカップリングと普遍的なクロマチン構造変換機構	平成22年度～平成26年度	花岡 文雄	学習院大学・理学部・教授	13
A01計	22131002 コアヒストンから迫る新規クロマチン構造変換機構の同定	平成22年度～平成26年度	関 政幸	東北薬科大学・薬学部・教授	1
A01計	22131003 ヒストン修飾酵素の欠損による転写疾患とゲノム機能調節	平成22年度～平成26年度	青田(浦) 聖恵	千葉大学・理学系研究科・教授	1
A01計	22131004 DNA損傷初期応答のヒストンシグナルネットワークの解明	平成22年度～平成26年度	井倉 毅	京都大学・放射線生物研究センター・准教授	1
A02計	22131005 クロマチンリモデリングの可視化プロテオミクス	平成22年度～平成26年度	安井 明	東北大学・加齢医学研究所・教授	1
A02計	22131006 発がんががん治療に影響を与えるクロマチンリモデリングの制御機構	平成22年度～平成26年度	河野 隆志	国立がん研究センター研究所・ゲノム生物学研究分野・分野長	2
A02計	22131007 クロマチンリモデリングの構造生物学	平成22年度～平成26年度	山縣 ゆり子	熊本大学・医学薬学研究部・教授	2
A03計	22131008 複製と修復をカップリングする損傷乗り越え複製の普遍性	平成22年度～平成26年度	花岡 文雄	学習院大学・理学部・教授	2
A03計	22131009 転写共役修復とタンパク質リモデリング	平成22年度～平成26年度	田中 亀代次	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A03計	22131010 DNA-タンパク質クロスリンクとクロマチンリモデリング	平成22年度～平成26年度	井出 博	広島大学・理学研究科・教授	2
計画研究 計 10 件					
A01公	23131510 遺伝子転写調節におけるヒストン翻訳後修飾ネットワークとクロマチン再構築	平成23年度	伊藤 敬	長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授	1
A01公	23131516 DNA損傷時のユビキチン修飾による高次クロマチン構造の動的制御	平成23年度～平成24年度	白井 温子	理化学研究所・発生・再生総合研究センター・研究員	1

A01 公	25131702 代謝産物によるDNA損傷修復に適したクロマチン構造形成のメカニズムの解明	平成25年度～平成26年度	増本 博司	長崎大学・医学部共同利用研究センター・講師	1
A01 公	25131704 メディエーター複合体が中核となる転写とクロマチン構造変換の協調的制御機構の解明	平成25年度～平成26年度	大熊 芳明	富山大学・医学薬学研究部・教授	3
A01 公	25131708 メチル化ヒストンH4をDNA二本鎖損傷特異的シグナルに変換する分子機構の解明	平成25年度～平成26年度	中田 慎一郎	大阪大学・医学系研究科・独立准教授	1
A01 公	25131715 Rad18によるヒストンH2Aのユビキチン化修飾を介した細胞周期制御機構	平成25年度～平成26年度	立石 智	熊本大学・発生医学研究所・講師	1
A01 公	25131721 DNA複製開始タイミングを規定する因子による染色体クロマチン制御とDNA修復反応	平成25年度～平成26年度	田中 誠司	国立遺伝学研究所・微生物遺伝研究部門・助教	1
A02 公	23131505 染色体ストレス応答におけるクロマチンリモデリング因子の役割	平成23年度～平成24年度	石合 正道	京都大学・放射線生物研究センター・准教授	1
A02 公	23131506 DNA損傷チェックポイントによるクロマチン構造変換を介した新たな組換え修復制御	平成23年度～平成24年度	臼井 雄彦	大阪大学・蛋白質研究所・助教	1
A02 公	23131511 ゲノム切断修復におけるクロマチン構造の役割	平成23年度～平成24年度	足立 典隆	横浜市立大学・先端医科学研究センター・教授	1
A02 公	23131514 DNA相同組換え修復機構におけるBRCA1ユビキチンリガーゼ活性の役割	平成23年度	太田 智彦	聖マリアンナ医科大学・医学研究科・教授	1
A02 公	25131706 染色体ストレス応答におけるクロマチンリモデリング制御の分子メカニズム	平成25年度～平成26年度	石合 正道	京都大学・放射線生物研究センター・准教授	1
A02 公	25131720 ヌクレオソームにおける紫外線DNA損傷の収納と認識の分子機構	平成25年度～平成26年度	越阪部 晃永	早稲田大学・理工学術院・助教	4
A03 公	23131502 出芽酵母を使ったDNA複製、修復後のクロマチン構造の再生機構の解明	平成23年度～平成24年度	増本 博司	筑波大学・生命環境環境科学研究科・助教	1
A03 公	23131503 発がんシグナルが誘導するDNA複製異常におけるY-familyポリメラーゼの役割	平成23年度～平成24年度	山下 孝之	群馬大学・生体調節研究所・教授	3

A03 公	23131504 DNA複製に伴うチェックポイント因子とdNTPs供給の時空間的クロストーク	平成23年度～平成24年度	丹伊田 浩行	浜松医科大学・医学部・准教授	1
A03 公	23131507 DNA複製・クロマチン形成とミスマッチ修復機構の機能的カップリング	平成23年度～平成24年度	高橋 達郎	大阪大学・理学研究科・助教	1
A03 公	23131512 M期DNA損傷の修復系とDNA複製開始制御の連係機構の解析	平成23年度～平成24年度	西谷 秀男	兵庫県立大学・生命理学研究科・教授	1
A03 公	23131513 DNA二本鎖損傷依存性ヒストンユビキチン化による複製転写制御とゲノム安定性	平成23年度～平成24年度	中田 慎一郎	大阪大学・医学系研究科・独立准教授	1
A03 公	23131515 DNA修復・複製の連携役としてのチェックポイント機構とクロマチン制御の機能関連	平成23年度～平成24年度	古谷 寛治	京都大学・放射線生物研究センター・講師	1
A03 公	23131517 組換えによるテロメア維持とクロマチン動態の解明	平成23年度～平成24年度	鍋谷 彰	京都大学・生命科学研究所・助教	1
A03 公	23131518 DNA損傷部位で停止した転写装置が及ぼす複製フォークの進行阻害とその回復機構	平成23年度～平成24年度	真木 寿治	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授	1
A03 公	23131519 塩基除去修復によるゲノムワイドなゲノム情報の再構築	平成23年度～平成24年度	斉藤 寿仁	熊本大学・自然科学研究科・教授	1
A03 公	25131703 がん遺伝子が誘導する複製ストレス応答におけるY-familyポリメラーゼの役割	平成25年度～平成26年度	山下 孝之	群馬大学・生体調節研究所・教授	3
A03 公	25131707 DNA修復・複製の連携役としてのチェックポイント機構とクロマチン制御の機能関連	平成25年度～平成26年度	古谷 寛治	京都大学・放射線生物研究センター・講師	1
A03 公	25131710 DNA損傷を介して起こる酸化ストレス誘導性細胞死とHDAC阻害剤による抑制	平成25年度～平成26年度	辻本 賀英	大阪府立成人病センター研究所・研究所長	1
A03 公	25131712 ミスマッチ修復がクロマチン複製と協調して機能する機構の解析	平成25年度～平成26年度	高橋 達郎	大阪大学・理学研究科・助教	1
A03 公	25131713 DNA損傷部位で停止した転写装置が及ぼす複製フォークの進行阻害とその回復機構	平成25年度～平成26年度	真木 寿治	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授	1

A03 公	25131714 Ctf18-RFCによるDNA複製・染色体接着・損傷応答カップリングの解明	平成25年度～平成26年度	釣本 敏樹	九州大学・理学研究院・教授	1
A03 公	25131717 不完全なDNAメチル化に伴うクロマチンタンパク質のユビキチン化とその役割	平成25年度～平成26年度	西山 敦哉	名古屋市立大学・医学研究科・講師	1
A03 公	25131718 修復と複製時に機能するCul4-DDB1-Cdt2によるゲノム維持機構	平成25年度～平成26年度	西谷 秀男	兵庫県立大学・生命理学研究科・教授	1
A03 公	25131719 一方向からDNA鎖間架橋と衝突した複製フォークのプロセッシング機構の解析	平成25年度～平成26年度	橋本 吉民	東京薬科大学・生命科学部・助教	1
A03 公	25131722 複製フォーク再生メカニズムの解析	平成25年度～平成26年度	鐘巻 将人	国立遺伝学研究所・新分野創造センター分子機能研究室・准教授	1
公募研究 計 33 件					

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、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。

【研究の学術的背景】

複製、修復、転写はそれぞれ全く異なった機構であると考えられているが、いずれもクロマチンを最大限に利用して DNA の代謝を行ない、また、複製、修復、転写は相互に機能的にカップリングしていることが分かって来ている。本申請領域の代表者である花岡は複製が損傷に出会ったときに、その損傷を鋳型として働く別の DNA ポリメラーゼを呼び込んで損傷を乗り越える合成を行い、その欠損が XP バリエーションとして知られる紫外線によるヒト高発がん遺伝病であることを発見した (Nature 1999)。この機構は translesion synthesis (TLS; 損傷乗り越え合成) と呼ばれ、複製が損傷を見つけたときに起こる損傷応答メカニズムの一つである。転写については、計画研究者の田中が、転写が損傷を見つけた時に起きる修復タンパク質の現場へのリクルートの機構 (TCR; transcription-coupled repair、転写と共役した修復) を明らかにしている (Mol Cell Biol 2007)。複製にも転写にも気付かれないクロマチンの中の損傷はクロマチンタンパク質によってまず見つけられ、その後修復タンパク質に引き渡されているらしい。すなわち損傷を見つけて修復経路を決めるのはクロマチンタンパク質らしいのである。この「らしい」を明らかにするためには、本班員予定者たちの開発したユニークな実験系が必要である。

ヒストン修飾の損傷応答への影響の網羅的解析、損傷応答の生細胞でのリアルタイム可視化解析、プロテオミクスによる機能的複合体解析、などの手法を駆使した共同研究により、修復が細胞内でどのように始まるのかを明らかにすることが可能であると考えた。さらに、がんや遺伝病などのゲノム疾患はこれまで修復タンパク質の異常によってもたらされることが分かっているが、種々のクロマチンタンパク質やその制御因子の欠損ががんの原因となり、同時に治療のターゲットになるであろう。この研究領域には、同時にもう一つの大きな着想として次のようなことがある。細胞内でのゲノム損傷の修復プロセスは、クロマチンの局所的な開放を必要とし、このプロセスには転写開始や複製に必要なクロマチンリモデリング因子が多く関与すると考えられる。すなわちクロマチンリモデリングには複製、修復、転写で普遍的な機構が存在している可能性がある。

損傷応答から出発するクロマチンリモデリング解析は、局所照射などでその現象の起きる時間と場所を研究者が設定出来、リアルタイムの可視化解析が可能である。得られたリモデリング機能を複製と転写で検証すれば、その機構の普遍性と特異性が解明出来る。班員の共同研究を深め、修復と複製、転写のカップリング機構の解明と、修復と転写開始を比較解析して、複製・修復・転写に共通するクロマチンリモデリングの普遍的な機構を見つけ出す。このように、損傷応答から切り込む核酸-タンパク質の相互作用の解明から複製、修復、転写に普遍的な制御機構を明らかに出来ると考えるに至った。

【全体構想】

本研究領域は、ゲノムの修復と転写、複製のカップリング機構と損傷応答機構の解明から出発して、クロマチンリモデリングの普遍的な性質を解明し、新しいパラダイムを創出することを目標にする。研究項目として「A01. ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究」、「A02. クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響」、「A03. 修復と転写、修復と複製のカップリング機構」の3つに分けてはいるが、全9課題それぞれが関連する研究から成り立っており、クロマチンリモデリングの普遍的な性質の統括的な理解を共通の目標に置いている。計画研究にない研究手法やターゲットを持ち、計画研究を補完する研究課題を10件ほど公募研究によって補充し、研究の目標到達を図る。

A01. ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究

出芽酵母のコアヒストンの全ての非アラニン残基をそれぞれアラニンに置換したライブラリーのスクリーニングから得られた修復と転写及び双方に影響の変異株の解析から、修復特異的な変異と転写と共通の変異を比べて、クロマチンリモデリングの転写と修復での普遍性と特異性を遺伝的で分子的に解明する。ヒト細胞での二重鎖切断に伴うヒストン γ H2AX に結合するタンパク質の網羅的解析から得られた損傷応答シグナルの活性化に関わるタンパク質ネットワークの分子構成を明らかにし、同定した因子を siRNA でノックダウンして遺伝的細胞学的にヒストン修飾の機構を解明する。特定のヒストン H3K36 メ

チル化酵素の欠損は転写制御の異常をもたらし、先天的な種々の形態疾患の原因となるが、このタンパクは同時にクロマチンシグナル伝達に機能し、ゲノム情報維持にも関わり合っていて、転写から修復への展開が期待される。

A02.クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響

ATP 依存的クロマチンリモデリングはヒストンの修飾を必要としない機構で修復タンパクが働けるようにクロマチンを開くと考えられる。関連するタンパク質の動きを GFP 融合タンパクで可視化し、プロテオミクスでその複合体を決定する。とりわけ二重鎖切断の修復を開始する機構を明らかにし、転写開始のクロマチンリモデリングと比較する。これらの複合体の構成タンパクはいずれも修復タンパク同様、欠損するとゲノム不安定性をもたらす。発がんの原因になるか、がん治療のターゲットになるかを検証する。クロマチンリモデリングの構造生物学は複製、転写、修復の普遍的な機構を構造的に解明する。

A03.修復と転写、修復と複製のカップリング機構

修復と転写や複製との関係では相互の機能的なカップリング機構が複製と転写の修復によるレスキューを可能にしている。複製が損傷に出会う場合と転写が損傷に出会う場合では細胞の対応が全く異なるのに驚く。一見、たまに間違えても困らない転写はストップして修復を呼び込む損傷を修復させるのに対して、間違えると変異や細胞死につながり得る複製は損傷を鋳型として複製する特殊なポリメラーゼを呼び寄せる。つまり修復は後回しである。この機構がどれほど普遍的なのか、これまでに知られている複製とどのように協調しているのかを明らかにする。また、タンパク質とゲノム DNA のクロスリンクは複製と修復のカップリング機構により修復される。以上の修復と転写、修復と複製のカップリング機構の欠損は種々のゲノム疾患の原因となっている。これらの機構と疾患との関係の解明を目指す。

【本研究領域が我が国の学術水準の向上・強化にどう繋がるか？】

これまで、転写のトピックスであったクロマチンリモデリングが世界的に修復のテーマにもなりつつある。例えば GEN と呼ばれるジャーナル(Genetic Engineering & Biotechnology News)は 2010 年 5 月の特集号で「Traditionally, people thought of chromatin remodeling primarily as a means for transcription, but we now see that chromatin remodeling is involved in DNA repair as well. When not repaired properly, cancer may result. This provides us with a potential new target for the detection, prevention, and treatment of cancer.」と言う表現で、クロマチンリモデリングが転写のみならず修復にも関与していることが認識され、この機能の欠損はがんを引き起こすので、がんの診断、予防、治療のための新たな標的として期待出来ると説明している。

日本は国際的に高い DNA 修復研究のレベルを誇って来ている。多くの修復遺伝子が日本で初めて発見され、修復と複製、修復と転写の関係も多くのブレークスルーが日本で成し遂げられた。生きている細胞での修復の機構の理解とその複製と転写への関係の解明に向けての十分な準備が日本で整った。本研究領域は久しく組織されていない DNA 修復の新しい研究プロジェクトに位置し、これまでの修復酵素の機能解明のための *in vitro* 実験を中心とした研究の次のプロジェクトに位置する。細胞内での修復に必須のクロマチンリモデリングの解明と複製、転写との普遍性や協調的機能としてのカップリング機構を明らかにする新学術的な研究である。目標はこれまでに無い、ゲノム代謝での細胞内機能の協調性と普遍性、同時にその特異性を明らかにする大きな研究計画であるが、本研究領域の基本的姿勢は高踏的なトピックスを集めた拡散的な研究計画ではなく、焦点を絞った、これまでの研究に根ざした確実に膨大な基礎研究の展開である。

細胞内には多数のクロマチンリモデリング因子が存在し、複製や転写で重要な役割を果たすことが知られているが、その機構に最も依存しているはずの修復ではその機構はまだほとんど分かっていない。本研究課題は新しい実験方法を導入して結果を検証し合い、細胞内での損傷応答とクロマチンリモデリングを根本的に理解する。複製や転写に比べて可視化解析のし易い損傷応答で得られる新しい知識を、複製や転写、さらにはクロマチンリモデリング機構の理解にも役立てることが可能となる。さらに、これらの細胞内損傷応答機構の理解と、ゲノム不安定性や細胞死につながるがんやがん治療等への重要な応用研究への展開が期待される。

2. 研究領域の設定目的の達成度（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、どの程度達成できたか、また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしての達成度合いについて、具体的に記載してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

本研究領域では、既に述べたように3つの研究項目に分けて、それぞれ3課題ずつ計画研究を配し、全9課題で「クロマチンリモデリングの普遍的な性質の統括的な理解」を共通の目標に置いた。そして計画研究にない研究手法やターゲットを持ち、計画研究を補完する研究課題を10件余りの公募研究によって補充し、研究の目標達成を図った。

「A01.ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究」では、まず計画研究として、**関班員**（5年）の課題について述べる。関班員は出芽酵母ヒストン点突然変異ライブラリーを駆使し、「ゲノム普遍的制御におけるヌクレオソームの役割の解明」を目指し、具体的に転写・染色体分配・DNA修復におけるヌクレオソームの役割の一部を解明した。また脊椎動物細胞やカエル卵無細胞抽出系を用い、エピジェネティック情報継承の基盤とも言えるDNA複製時のヌクレオソーム動態の一部を解明した。ゲノムの動態におけるヌクレオソームの役割はとて奥が深く、そのすべてを解明するにはまだまだ時間が掛かるが、当初の設定目標はほぼ達成したと評価できる。**青田（浦）班員**（5年）は、既に自分たちで明らかにしているWolf-Hirschhorn syndromeの責任遺伝子（Whsc1）がヒストンH3K36me特異的な酵素であることを基盤にして、Whsc1の機能解析から、転写とDNA損傷応答の分子カップリング機構を明らかにすることを目的とした。結果として、転写活性領域に誘導されるDNA損傷修復にH3K36メチル化酵素が機能する新規の転写-DNA修復機構の存在を提唱するに至り、当初の目標はおおむね達成した。**井倉班員**（5年）は、ヒストンH2AXがTIP60ヒストンアセチル化酵素複合体によりアセチル化され、損傷クロマチンから放出される現象の分子レベルでの解明を目標として研究し、転写反応と細胞内代謝システムがクロマチンを介してカップリングしていることを示した。このようにクロマチンの動的変化を介したDNA損傷応答シグナルのエピジェネティック制御の一端を明らかにしており、当初の目標はほぼ達成している。

次に公募研究として、**伊藤班員**（1年）は、ヒストンのユビキチン化と転写の関連性について明らかにすることを目標とした。そしてヒストンH2Aの脱ユビキチン化酵素のUSP21の短縮型バリエーションであるUSP21SVがユビキチン化H2Aからの脱ユビキチン化に働いて、転写を活性化することを見出した。**白井班員**（2年）は、分裂酵母のCul4ユビキチンリガーゼ複合体によって修飾されるタンパク質の網羅的な解析を行う中で、特にヘテロクロマチン関連因子に焦点を絞って研究し、HP1/Swi6がCul4ユビキチンリガーゼ複合体によって直接的もしくは間接的にユビキチン化を受けていることを見出した。**増本班員**（2年）は、クロマチン構造変換に寄与する糖代謝産物の同定とその機能解析を行なった。クロマチンの構造形成およびDNA損傷剤の耐性を起こす代謝産物を同定し、その機能解析を行なっているところである。**大熊班員**（2年）は、メディエーター複合体によるクロマチン制御について解析することを目的とした。メディエーター複合体の名は、転写因子の活性をRNAポリメラーゼIIに仲介（メディエート）する機能に由来し、細胞運命決定に重要な役割を果たす。その際クロマチンも制御して転写と協調的に調節する。そこで神経細胞分化の際のコファクターとの相互作用を解析し、機構解明を目指した。今回、クロマチン制御複合体PRC2がSuz12とEzh2サブユニットでメディエーターのCDKと結合して機能することを示すことができた。**中田班員**（4年）は、通常DNA損傷応答シグナルとして機能しないジメチル化ヒストンH4がDNA2本鎖損傷部位においてDNA損傷応答シグナルに変換される分子機構を明らかにしようとした。本研究により、ユビキチン化が関与する分子機構が解明され、目標が十分に達成された。**立石班員**（2年）は、Rad18がヒストンタンパク質をユビキチン化して遺伝子制御することを介して発がんを防御している可能性を検討した。またRad18とChk2がどのように発がんを防いでいるかを解明しようとした。その結果、Rad18が特定の遺伝子発現を制御していることがわかった。これがヒストンのユビキチン化を介して起こっているかを米国との共同研究により解析している。Rad18は未複製領域の修復を、Chk2は分裂期での細胞死を誘導することにより、ゲノムの安定性を保ち、発がんを防御している。**田中（誠）班員**（2年）は、自身らが新たに見出したDNA複製開始制御因子による細胞周期特異的な染色体クロマチン制御のメカニズムを解明し、そのような制御機構がチェックポイント応答とDNA修復をはじめとする他のDNAメタボリズム経路との連携においてどのように機能しているかを調べることを目的として解析を行った。その結果、幾つかの興味深い発見があり、初期目的はほぼ達成できた。

「A02.クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響」については、まず計画研究として**安井班員**（5年）がクロマチンリモデリングが如何にDNA修復に関わっているか？その機能は転写と修復でどれほど共通であるか？この二つの質問に答えるべく、ATP依存的なクロマチンリモデリングがDNA修復で如何に機能するか、転写との違いがあるかを調べた。ISWIファミリーのACF複合体とSWI/SNFファミリーのBAF複合体が修復に関わり、二重鎖切断が転写を抑制して修復を引き起こす機構を解明し、当初の達成目標に到達した。**河野班員**（荻原・分担研究者）（5年）は、発がんがんとがん治療の両者を研究テーマとして進め、前者はがん遺伝子の転座におけるDNA切断修復の機構・ヒト肺がんにおけるクロマチン制

御遺伝子の異常の解明、後者はクロマチン制御遺伝子 BRG1 失活がんの合成致死治療標的として BRM-ATPase タンパク質を同定に至った。よって、目標を十分に達成できたと考える。**山縣班員 (森岡・分担研究者) (5年)**は、ゲノム修復、複製、転写のカップリングと普遍的なクロマチンリモデリング機構の分野におけるさらに新しい視点で、他に波及効果の大きい点として、1) 裸の DNA ではなくクロマチンレベルでの DNA を考慮する構造生物学、2) ゲノム修復、複製に関わる酵素に関して時間軸も加えた 4 次元構造レベルの機能解明、3) これまでは考慮されなかった水素原子の同定による働く仕組みの解明の前進、以上を目的とし、幾つか想定したところに到達した。

次に**公募研究**では、**石合班員 (2年 x 2)**がヒト遺伝病「ファンconi貧血(FA)」原因遺伝子群の構成する FA 経路について研究した。FA 経路は、DNA クロスリンク(ICL)修復と染色体ストレス応答に必須の役割を果たす。石合班員は、FA 経路を中心とした ICL 修復と、クロマチン制御のカップリングの可能性を想定した。まず、FA 経路の中心分子 FANCD2 のヒストンシャペロン活性について検討を行った。変異体の作製、解析を通じ、FANCD2 が直接クロマチンの動的変化を制御することなどを見だし、その成果を論文として発表した。続いて、その分子メカニズムの詳細を検討しており、現在も継続中である。また、関連が指摘されていた Swi/Snf 複合体と FA 経路の機能連携の検討は、残念ながら機能連携は弱いと結論されたが決着した。以上のことから、当初の目的はほぼ達成できたと考えられる。**白井班員 (2年)**は出芽酵母の系で、姉妹染色体間の相同組換え(homologous recombination: HR)に DNA 損傷チェックポイントが関与する可能性を調べた。その際、体細胞と異なり、相同染色体間 HR が優位になる減数分裂期において、配偶子形成に必要な HR を開始する計画的二本鎖切断(DSB)によっては活性化されない Rad53 チェックポイントキナーゼに着目した。そして Rad53 の活性化に必要なタンパク質 Rad9 の局在について興味深い結果が得られた。**足立班員 (2年)**は、DNA 二本鎖切断修復やクロマチン構造変換に重要な役割を果たすヒト遺伝子群のノックアウト細胞の作製と解析を行うことで、クロマチン構造変化が及ぼすゲノム安定性や二本鎖切断修復機構への影響を明らかにすることを目標として研究を行った。種々の遺伝子ノックアウト細胞の作製は順調に進んだが、表現型解析に遅れが見られた。しかしながら、核サーチェーンや APOBEC3G の機能に関して興味深い知見を得ることができた。**太田班員 (1年)**は、主に HERC2、Claspin、BRCA1 が DNA 複製とチェックポイントに果たす役割について解析した。その結果、これら三者の相互作用が DNA 複製とチェックポイントを制御していることを明らかにした。したがって当初の目的は達せられた。**越阪部班員 (2年)**は、紫外線損傷塩基のクロマチン収容機構と認識機構を、生化学および構造生物学的に解明することを目的として研究した。本研究期間中に、塩基架橋損傷である 6-4 光産物を特定の位置に配置したヌクレオソームの X 線結晶構造解析に成功した。さらに、生化学的解析で得られた知見と組み合わせることで、クロマチン中における紫外線損傷塩基の認識機構の一端を明らかにした。以上の成果は、現在論文に投稿中である。

「**A03.修復と転写、修復と複製のカップリング機構**」については、まず計画研究として**花岡班員 (益谷・分担研究者) (5年)**は、DNA 損傷修復と複製のカップリングの代表である損傷乗り越え合成(translesion synthesis: TLS)の全プロセス、すなわち DNA の損傷による複製装置の停止から損傷乗り越え合成までの全過程を分子レベルで明らかにすること、またその制御の機構、特にスライディングクランプ PCNA のユビキチン化の役割について解析すること、さらに TLS とクロマチンリモデリングとの関連についての知見を得ることを目標とした。最後の点については、最終的なところまでには到達しなかったが、それ以外のほとんどについては目標を概ね達成出来、さらに予期しなかった結果も得られ、将来に大きな期待が持てる。**田中 (亀) 班員 (5年)**は、転写を阻害する鋳型鎖上の DNA 損傷を迅速に除去し、転写を回復させる「転写と共役したヌクレオチド除去修復」(TC-NER)機構の解明を目的として、RNA ポリメラーゼ II(PolII)、CSB、UVSSA、USP7 の機能解析、それらのユビキチン化ネットワークや SUMO 化の意義について解析した。個々の因子の機能解析と相互作用の役割については非常に興味深い成果が得られ、また予想以上の成果も得られた。一方、翻訳後修飾ネットワークの意義については非常に奥が深いため更なる解析が必要である。**井出班員 (5年)**は、DNA-タンパク質クロスリンク(DPC)の生物影響と修復機構解明に取り組んだ。生物影響については、DPC の複製・転写影響について新しい知見が得られ、目的を概ね達成できた。修復機構については、ゲノムにおける DPC の動態を解析できるようになったが、DPC で停止した複製フォークの再活性化機構については実験系の確立に時間を要し、研究の進展が若干遅れた。

次いで**公募研究**として、**増本班員 (2年)**が DNA 損傷修復・複製などの細胞内イベントの過程で起こるクロマチン構造の一時的な崩壊と再生のメカニズムの解析を行なった。染色体複製後のヘテロクロマチン構造の再生機構を解明し、その成果を論文として発表した。**山下班員 (2年 x 2)**は発がん遺伝子が様々な DNA 複製異常を引き起こしてゲノム不安定性を促進することに着目した。これら複製異常の中でも、再複製に関与するポリメラーゼの役割分担について、Y-family ポリメラーゼを中心に解明することを目的とした。DNA の再複製に複数の Y-family ポリメラーゼの関与が示され、目的は 80%以上達成した。**丹伊田班員 (2年)**は哺乳動物細胞において pre-replicative complex(pre-RC)形成促進因子、HBO1 が UV ダメージ後にリン酸化を受ける意義について解明を試みた。HBO1 は UV ダメージ後に ATM/ATR 依存的にリ

ン酸化され、pre-RC に必須の因子である CDT1 の分解を促進していることが明らかとなった。その後 HBO1 自身もリン酸化によりユビキチン化が促進され分解することも明らかにしている。高橋班員 (2年 x 2) は、真核生物ミスマッチ修復 (MMR) が新生鎖を識別する機構、及びクロマチン上で機能するための機構の解明を目指した。前者については、複製因子 PCNA が MMR の鎖特異性を決め、MMR 因子は逆に PCNA を DNA 上に維持して鎖特異性を確保すること、後者については、MMR がリモデリング因子及びヒストンシャペロンを呼び込んでヌクレオソームを排除する機構を発見、解明した。従って当初目標は十分あるいはそれ以上に達成されたと考える。西谷班員 (2年 x 2) は、細胞周期における DNA 複製ライセンス化因子 Cdt1 の分解制御の視点から、DNA 損傷と S 期 DNA 複製の関わりを明らかにすることを目的に研究を行い、M 期紫外線照射細胞が G1 期停止により S 期 DNA 複製の開始を抑制して細胞の生存を助けること、異なった PCNA ローダーの使い分けがあることを見だし、目標をほぼ達成できたと思われる。古谷班員 (2年 x 2) は、ヒトのチェックポイントタンパク質の受ける段階的リン酸化制御の仕組みを明らかにすることを目標とした。段階的にチェックポイントタンパク質が発動から不活化までが制御されていると考え、DNA 損傷修復との機能連携に関わる、と予想したためである。とりわけ最終段階のリン酸化に注目し、リン酸化部位への結合因子として別のキナーゼを同定した。このキナーゼがさらなるリン酸化を行っていること、また、その部位を同定することでタンパク質分解と損傷部位からの解離が制御を受けることを見出した。鍋谷班員 (2年) は、染色体末端のテロメア DNA を相同組換えにより維持するヒトのテロメア維持機構 (alternative lengthening of telomeres: ALT) の分子機構を明らかにするために、増殖時のテロメア長変化を高感度に検出する系の確立を目的とした。特定のテロメアにタグ配列を持つ ALT 細胞を作出し、一本のテロメア DNA 長のみを検出可能にした。この細胞のテロメア長は継代培養後に短小化および急激な伸長を示したことから、ALT 細胞のテロメアの動的变化を解析できる実験系が確立できた。真木班員 (2年 x 2) は、DNA 損傷により停止した転写装置が DNA 複製フォークの進行にどのような影響を与えるのかを分子レベルで解明することを目的とした。しかし、*in vitro* DNA 複製系での解析に用いる特定の部位に DNA 損傷を導入した鋳型 DNA の作成に手間取ったために、DNA 損傷による複製フォークの進行阻害とその回復過程の解析を中心に研究を進めることとし、この研究目的については達成することができた。斉藤班員 (2年) は、塩基除去修復因子として知られている Thymine DNA glycosylase (TDG) が Small ubiquitin-related modifier (SUMO) とユビキチン修飾を受けることに着目して、SUMO-依存的なユビキチン E3 リガーゼ RNF4 との相互作用を解析した。その結果、SUMO 非依存的な TDG と RNF4 の相互作用の存在と、S 期特異的な TDG のユビキチン化にこの相互作用が関与しない可能性を明らかにした。辻本班員 (2年) は、酸化ストレスによるゲノム DNA 損傷応答 (DDR) を介した細胞死及び HDAC 阻害剤による抑制の分子メカニズムを明らかにするために、そのキーとなる分子の同定を試みた。その結果、キーとなる分子を特定するまでには至らなかったが、その制御には解糖系のフローが関係していること、また、酵母を使用した遺伝学的スクリーニングによりキーとなる遺伝子の同定が可能であることを明らかにすることができた。釣本班員 (2年) は、PCNA ローダー、Ctf18-RFC と DNA ポリメラーゼ、Pole の複合体形成と複製、染色体接着、修復の 3 機能のカップリングの関係を明らかにすることをめざした。そして Ctf18-RFC/Pole 複合体形成が、Ctf18 の DNA 損傷に対する抵抗性、および染色体安定化のための機能に必須であることを示した。また Ctf18-RFC の PCNA ローディングは Pole と複合体を形成した時に活性を持つことを示し、概ね目的を達した。西山班員 (2年) は、DNA メチル化阻害に伴い観察されたヒストン H3 及び PCNA のユビキチン化について、その制御機構と DNA メチル化制御における役割を明らかにすることを目的として行なった。その結果、ユビキチン化 H3 についての研究はほぼ目的を達成するに至った (詳細は項目 5 で記載)。一方、PCNA のユビキチン化についてはその制御機構については進展があったものの、DNA メチル化における役割については解明に至らなかった。橋本班員 (2年) は、崩壊した複製フォークとレプリソームが再生可能かどうか明らかにするため、DNA 鎖間架橋と衝突した複製フォークのプロセッシング過程を解析する計画であったが、鋳型 DNA の作製に手間取ったため期間内での解析はほとんど出来なかった。そこで、オーキシンドグロン法を用いてレプリソーム因子を直接破壊するという手法に切り替えて解析を行い、GINS 複合体がレプリソームから分解除去されても再結合できる、すなわちレプリソームは再生可能であることを明らかにした。これは目的とした研究が予測しなかった結果を生んだ一つのよい例である。最後に複製フォークが DNA 二本鎖間架橋などの障害に遭遇すると、複製フォークが停止した部位において DNA の切断が起こり、最終的には相同組換えを利用し複製フォークが再生されると予想されている。このメカニズムを解明するために、鐘巻班員 (2年) は、ヒト細胞内の複製フォークを人為的に破壊する実験計画を提案した。実際に複製フォーク人為破壊に成功し、具体的な複製フォーク再生メカニズムが明らかになりつつある。成果を論文としてまとめることが必要である。

上記のように、ほとんどの班員が当初の目標をほぼ達成した。一部、目的のゴールには到達しなかった研究課題も散見されるが、逆に当初は予測しなかった成果が得られたケースも多く、全体的には達成度合いは良好と判断している。

3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ程度）

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

研究推進時に生じた問題は、いくつかのカテゴリーに分けることが出来る。

(1) 東日本大震災の影響

本研究領域が発足して1年弱の2011年3月11日に起きた東日本大震災によって、計画研究代表者の3分の1にあたる3名（**関班員**、**安井班員**、**花岡班員**）の研究室が大きなダメージを受け、そこから立ち直るのにかなりの時間を要した。まず停電や機器の破損等によって、数か月は実験が出来ない状況に置かれた。またフリーザーの破損で精製タンパク質などが失活し、初めから実験をやり直さねばならなかったものもある。ただ班員間で共用するために京大の井倉班員のところに保管していた試料は助かった。破損した研究機器については、大学を通じて文部科学省から予算的なサポートが得られ、大変有難かった。

(2) 研究が当初の予想通りには進まず、方針を転換：

青田（浦）班員は、Whsc1欠損MEF細胞の増殖異常からDNA損傷応答にWhsc1が関与することは示唆されたが、薬剤や放射線照射処理に対する感受性に変化が見られず、既存の方法では研究が進められなかった。他の班員の助けを借りて、Whsc1の複合体及び細胞核での局在解析から、転写活性領域に特化したDNA損傷応答を担うとの仮説を立て、転写とDNA組み換え修復が共役しているB細胞分化過程に焦点を絞ることによって、その機能が明らかにできた。**真木班員**は、DNA損傷を特定の部位に導入した鋳型DNAの作成は米国とフランスの共同研究者との共同作業で行ったが、作成効率の向上と標品の純度を高めることに予想以上に時間を費やしてしまった。そのため、研究期間内に新たに構築した実験系を用いての研究成果をあげるために、DNA損傷で停止した複製フォークの回復における損傷乗り越えDNAポリメラーゼの作用について解析を進めた。**釣本班員**は、当初、ヒト細胞でのCtf18の機能解析を試みたが、ノックダウン細胞では明確な影響を見ることができなかつたため、**田中（誠）班員**との共同研究で、出芽酵母の変異株を作製して、Ctf18-RFC/Pole複合体形成欠損の形質を解析した。**橋本班員**は、プラスミドへ部位特異的にDNA鎖間架橋を導入したものを鋳型として用いる計画であったが、十分量作製するのが困難であった。DNA鎖間架橋は複製フォークを崩壊させる手段の一つとして考えていたため、別の手段としてオーキシソグロン法を用いてフォーク崩壊を誘導する系を新たに構築した。

(3) 研究手技の困難さにより研究が停止したが、工夫してそれを克服：

益谷・分担研究者は、PCNAがホモ3量体であるがゆえに生じうる翻訳後修飾の多様性を考慮した複雑度の高い解析を行うことが必要となったが、高度に精製したタンパク質による再構成系と培養細胞系の解析を的確に組み合わせることにより、効果的に解析を進めた。**高橋班員**の研究では、ミスマッチ結合因子の網羅的同定に高感度の質量分析と高度なデータベース検索アルゴリズムが必須であったが、北海道大学の**小布施力史教授（班員のち班友）**と共同研究することにより解決した。また同定した因子を生細胞のシステムで解析することによってMMRへの寄与を解明することが重要と考えられたが、この問題は**田中（誠）班員**の助けを得て、出芽酵母の解析系を立ち上げることによって解決した。**鐘巻班員**は、当初、CRISPR-CAS法によるゲノム編集技術が新しいために、ヒト細胞での遺伝子改変法が十分確立されていなかった。そこで、実際に複数の細胞種を試し、ノックインに向けた細胞を探しだした。また、セレクトションマーカーとタグの組み合わせからなるノックインカセットを多数作成し、ヒト細胞で遺伝子改変を自由に行うことができる環境を整えた。

(4) さまざまな環境の変化に対応して、方針を転換：

関班員は、本領域研究の途中でポジションの異動があり、研究環境が激変したため、「DNA複製時のヌクレソーム動態解明」の続行が不可能になった。その代わりに「ヒストン点変異ライブラリーを用いた研究」をより集中的に推進し、成果をあげる対応をとった。**大熊班員**は、メディエーターのMED17サブユニットの解析を行っている際に、これが転写因子だけでなく、DNA損傷修復因子と相互作用することが酵母において示された。そこで、ヒトにおいてMED17が細胞の紫外線照射により、そのDNA損傷修復に関わるXPGとXPBと協調的に機能していることを、神戸大学の**菅澤薫教授（班員のち班友）**の研究室で行うことで解析することができた。**石合班員**は、当初、Swi/Snf複合体とFA経路の機能連関の検討は、欠損細胞の作製・解析で行うこととしていたが、その前提となるSwi/Snf複合体とFA経路の相互作用の全貌を把握する実験が未実施だったため、初年度の計画を変更した。次年度は、DT40細胞を用いた欠損細胞実験が難航し、致死性を疑い、ヒト細胞でのノックダウン実験と既存の欠損細胞を利用し、結論を得た。

以上のように、班員あるいは元班員でのちに班友となった研究者の助けを借りて、困難を克服したケースが多く、このようなグループ研究がいかに有効であるかを如実に示している。なお本研究領域において組織変更は行わなかったが、公募班員でのちに他の新学術領域研究の計画班員として転出した研究者を班友として、領域会議等の研究活動に任意参加してもらったことを追記しておく。

4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況（2ページ程度）

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

<審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況>

特に指摘を受けた事項はなかった。参考までに「審査結果の所見」を載せておく。

『本研究領域は、多くが未解明である DNA 修復とクロマチン構造との関連を明らかにすることを目的とする提案である。DNA 修復は、生命の根幹に関わる普遍的機能であるとともに、癌や遺伝病との関連も深く、重要な研究課題である。これまでの DNA 修復研究は、主に裸の DNA を対象として進められてきたが、本研究領域ではクロマチン構造の観点から、複製、修復、転写を捉え直し、相互の共役や共通の制御基盤を探る新たなコンセプトを提案している。DNA 損傷修復可視化、プロテオミクスなどの技術的基盤がしっかりと整っており、また、研究組織は長年世界の DNA 修復研究を牽引してきた研究者と気鋭の若手研究者から構成されており、大きな研究成果と研究領域としての発展が期待できる。』

<中間評価で指摘を受けた事項への対応状況>

① 中間評価の結果は「A-（研究領域の設定目的に照らして、概ね期待通りの進展が認められるが、一部に遅れが認められる）」という判定であった。「一部に遅れが認められる」との評は素直に受け止めた。東日本大震災のダメージは思いのほか大きく、それが研究の遅れを招いた大きな原因の一つであることは間違いない。しかしそれがすべてではなく、計画班員の中で研究が予定通りには進まなかった部分もあった。それは研究の難しさであったり、人手不足であったり、想定外の環境変化など色々なケースがあった。そこで遅れの見られる研究について再検討し、本領域研究が終了するまでに出来るだけキャッチアップ出来るように領域代表者を中心に皆で助力・努力して、ほぼ克服したと判断している。

② 評価の着目点ごとの所見：

(a) 研究の進展状況

【所見】「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」としては、レーザーマイクロ照射による特異的箇所への DNA 損傷の誘起や、それを利用した生細胞における DNA 損傷応答のリアルタイム可視化技術などの研究手法が領域内で共有され新知見の発見につながるなど、順調に進捗している。「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」としては、クロマチンリモデリングの変異の存在が明らかになった癌研究など他の研究領域との関連性が高く、またゲノムの複製、修復という基本的な現象を対象とする知見が得られていることから多様な波及効果が期待できる。また、今後、より有効な波及効果を得るために、他の研究者コミュニティへの更なる発信を進めて欲しい。

【対応策】 これまでも比較的分野の近い新学術領域研究に関連した研究集会や国際シンポジウムを共催し、本領域の班員がそこへ参加し、発表することによって発信してきたが、さらに異分野のミーティングなどへも積極的に参加して、交流を深めて波及効果を得るよう一層の努力をした。

(b) 研究成果

【所見】「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」としては、目的タンパク質に結合するタンパク質を質量分析機を用いて網羅的に解析する系などが領域内で繁用されており、インパクトの高い成果が得られていると評価できる。一方で、**本新学術領域研究開始前の個々の研究者の枠内での研究推進に留まっているのではないかとする意見もあり、今後領域全体としての方向性を明確にし、有機的連携を深めることが期待される。**特に本研究領域は歴史が古く、新しい研究手法の導入なくしてブレークスルーはないと考えられる。「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」としては、がんや紫外線高感受性症候群の発症機序や治療法開発に対する波及効果が期待される成果が得られており、評価できる。今後も、がんの治療・成因解明の可能性を考慮に入れ、本新学術領域研究のさらなる発展に期待したい。

【対応策】 領域会議などの場で、領域全体としての方向性を明確にし、有機的連携を深めなければこのようなグループ研究を行う意味がないことを徹底させているつもりであった。そして研究の手法や材料を出来る限り共有し、効率化を諮るよう、今のところ班員限定ではあるが、領域ホームページで公開している。また研究材料（具体的には各種抗体、siRNA ライブラリー、DNA 修復など関連の深い遺伝子の cDNA、発現ベクター、精製タンパク質、DNA 修復欠損細胞等）を京大の井倉班員のところに集約して、希望者は誰でも使用出来るようなシステムを構築した。中間報告書の作成及びヒアリング準備の過程で、班員間の共同研究が多数進行中であることが分かり、領域代表者としてとても心強く思った。中間報告書の段階では、まだその一部しか発表論文としては表に出て来ていなかったが、その後、多くの成果が出ている。また新たな研究手法の導入に関しては、班員それぞれの努力が一番であるが、領域代表者が率先して導入

し手本となるよう心掛ける。そのために、異分野のシンポジウム等へも参加し、情報を収集するよう努力する。またそれらの新しい研究手法を班員に紹介して、領域内で広めていく。実際に「CRISPR-CAS法によるゲノム編集技術」など、新規の手法を導入して、既に成果をあげている班員もみられる。

(c) 研究組織

【所見】「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」としては、本研究領域の目的が研究者間に共有されており、個々の研究に順調な進展が見られる点は高く評価できる。今後は個々の成果を統合し、領域としての成果に発展させるための枠組み、制度の充実について領域代表者のリーダーシップが期待される。現在の計画研究、公募研究に参画している研究者は動物細胞または酵母を対象とする分子生物学者が大勢を占めており、多様性に欠ける側面があるため、次回の公募研究を募集するに当たり、**多様な分野の研究者を取り入れる**ことが期待される。また、**世代を担う若手研究者の育成**にもさらなる力を注ぐことが望まれる。「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」としては、疾患の発症機序解明や治療法開発につながる成果が得られている。

【対応策】個々の成果を領域としてどのように発展させるかは領域代表者の責任が大きい。本領域の計画班員から既にいくつもの世界に誇る成果が出ており、それらをうまく合流させて新たな流れを作り出すことは代表者としての醍醐味でもある。例えばクロマチンリモデリング因子の異常が発がんに結びつくことはほぼ間違いなく、その下流には一群の転写調節の異常があるはずである。同時にそれは修復と転写の共役反応にも繋がると考えられ、まさに本領域研究の主たる研究課題の一つであり、そのような方向へと導いていけたと認識している。次世代を担う若手研究者の育成は、本領域研究の最重要課題の一つであり、機会あるごとにその発掘を目指している。特に海外のミーティングに出かけたときに、偶然、原石とも言うべき人材に遭遇することがあり、そうした人材をまずは国内のミーティングなどに招聘し、講演の機会を与えるなどして布石を打つことを考え、そして実行した。こうした地道な努力が将来に活かされると信じている。もちろん人材を海外だけに求めるだけではなく、国内にも優秀な若手が存在しているので、彼らが早く独立した研究室を持てるよう、本領域代表者をはじめとした年輩者が積極的にポストを探し、また裾野を広げるべく学会等のワークショップ等でも講演をさせるように促した。後からの項目でも紹介するように、こうした努力はある程度実を結んだと考えている。

(d) 研究費の使用

【所見】特に指摘された問題点はない。

(e) 今後の研究領域の推進方策

【所見】今後、領域代表者及び総括班のリーダーシップのもとに個々の研究から得られた優れた結果を更に発展させ、連携を深めることで、**当該研究領域についての全く新しいコンセプトを導き出せるような戦略を打ち出す**ことを期待する。また、東日本大震災により多大な損害を受けたことが報告されており、研究進捗に大きな影響を与えているものと思うが、今後、研究代表者間の有機的な連携などにより、こうした困難を克服されることを期待したい。

【対応策】既に上記(c)に述べたことにも関係するが、班員間の連携が自然に発生するのを待つだけでなく、領域代表者が積極的に共同研究を促すことも必要である。一方、班員が直接顔を合わせて議論する場を増やすことも重要と考えられるので、領域会議だけではなく、日本分子生物学会年会など、班員のほとんどが参加するミーティングにおいて、そのような場を作るように努力した。また領域会議において班員の発表だけでなく、分野の離れた研究者をゲストとして招いて講演してもらい、新しい手法や考え方を学ぶ中で当該研究領域についての新しい切り口を見付けるような試みも実行した。東日本大震災による研究の遅延については、班員間での協力関係等で被害を最小限に止めることが出来た。

5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ程度）

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。

「A01.ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究」

【計画研究】

井倉班員は、TIP60 ヒストンアセチル化酵素と共にヒストン H2AX の交換反応を制御する因子として、ヒストンシャペロン FACT を同定し、これら 2 つのクロマチン構造変換因子の相互制御によって生み出される Positive Feedback loop が H2AX の交換反応を促進し、この交換反応が、S 期での相同組換え修復経路の選択に必要であることを明らかにした(Ikura *et al.*: *Genes Dev in revision*) (越阪部班員、古谷班員、木村班友との共同研究)。また DNA 損傷応答におけるヒストン H2AX のリン酸化とアセチル化の絶対定量を行い、これらヒストン化学修飾が細胞ごとに異なる制御を受けることを示した。ヒストン化学修飾の多様性を示した最初の報告である (Matsuda *et al.*: *Radiat Environment Biophys in revision*)。

関班員は、井出班員のアドバイスの元に、複製フォーク前方の傷害を避ける新規機構を複製タンパク質 Tipin に見出した (Hosono *et al.*: *JBC* 2014)。また酵母ヒストン点変異体を用いた解析で、ヒストンバリエント H2A.Z の染色局在に必須なヒストン H2B 残基の特定と、その立証のため新規研究戦略 FALC (Functional Analysis of Linker-mediated Complex)法を提唱した (Nakabayashi *et al.*: *PNAS* 2014)。

青田 (浦) 班員は、井倉班員と共同で、再構成クロマチン系を駆使して、クロマチン高次構造がクロマチン修飾および DNA 組換え反応に重要であることを実験的に示した (Machida *et al.*, *Sci Rep* 2014)。また米国 NIH の Ozato 博士等と共同して、ヒストン H3K36 メチル化酵素 Whsc1 が紫外線損傷などの刺激に伴う遺伝子の転写活性化に BRD4 や転写伸長因子と協調して機能することを明らかにした (Sarai *et al.*: *EMBO J* 2013)。

一方で、ヒストン H3K36 メチル化酵素 Whsc1 は、DNA 切断修復応答因子 53BP1 の DNA 損傷部位へのリクルートに関与するとの報告がなされていたが、青田 (浦) 班員が樹立した Whsc1 欠損胎仔繊維芽細胞(MEF)を用いて、53BP1 の DNA 損傷部位へのリクルートに Whsc1 は機能していないことを示した (Hartlerode *et al.*: *PLoS One* 2012)。関班員は、酵母ヒストン点変異体を用いた解析で、転写に共役して起こるヒストン H3 K36 メチル化へのヌクレオソームの役割を特定した (Endo *et al.*: *Genes Cells* 2012)。さらに染色体分配に関与する Sgo1 の作用部位をヌクレオソーム上に同定した

(Kawashima *et al.*: *EMBO J* 2011)。また DNA 複製時のヌクレオソーム動態研究で、ヒストンシャペロン FACT が親鎖上のヌクレオソーム解体に関わること (Abe *et al.*; *JBC* 2011)、ヒストンシャペロン Asf1 によるヒストン(H3-H4)₂ 四量体の 2 つの (H3-H4)二量体への分割で、複製フォークの進行が遅延する機構を推定した (Ishikawa *et al.*: *Genes Cells* 2011)。

【公募研究】

増本班員は、出芽酵母の三つの NAD⁺依存性デアセチラーゼ遺伝子および一つの糖新生経路遺伝子の四重欠損が、解糖系の亢進を引き起こすことで発酵経路を活性化することを見いだした (特許申請中)。大熊班員は、レチノイン酸(RA)処理により神経細胞に分化する Ntera2 細胞を用い、神経細胞に分化誘導すると、RA 標的遺伝子 *Lefty1* や *Cyp26a1* のプロモーター領域にメヂエーターがリクルートされ、メヂエーターの CDK を介して Suz12 と Ezh2 に結合することで、誘導前に抑制的に結合していた PRC2 複合体をプロモーターから遊離させるという結果を得た。その際、Ezh2 の 492 番目スレオニンが CDK によりリン酸化されることを明らかにし、これによる PRC2 の構造変換が引金になるモデルを提唱した (Fukasawa *et al.*: *J Biochem in press*)。またメヂエーターの MED17 サブユニットが細胞への紫外線照射により、その DNA 損傷修復に関わる XPG と XPB と協調的に機能していることを見出した (Kikuchi *et al.*: *Genes Cells* 2015)。中田班員は、通常 DNA 損傷応答シグナルとして機能しないジメチル化ヒストン H4 が DNA2 本鎖損傷部位において DNA 損傷応答シグナルに変換される分子機構を明らかにしようとした。脱ユビキチン化酵素 OTUB2 が RNF8 によるポリコーム分子 L3MBTL1 のユビキチン化を抑制的に制御することにより、ジメチル化ヒストン H4 に結合する相同組換え修復抑制分子 53BP1 の DNA 損傷部位への集積にブレーキをかけていることを見いだした。OTUB2 はこのほかにも Lys 63-linked ubiquitin 鎖の合成を抑制することで、相同組換え修復抑制分子 RAP80 の DNA 損傷部位への局在にもブレーキをかけていることがわかった。OTUB2 をノックダウンした細胞では、DNA2 本鎖損傷発生直後から急激なユビキチン化と 53BP1・RAP80 の DNA 損傷部位への局在が過剰に起こるため、非相同末端結合が優先的に起こることも示された。これらのことから、OTUB2 によるユビキチン化レベルの微調整が DNA 修復経路の選択に重要であることを示した (Kato *et al.*: *Mol Cell* 2014)。伊藤班員は、ヒストン H2A の脱ユビキチン化酵素の USP21 の短縮型バリエントである USP21SV が ubH2A からの脱ユビキチン化に働いて、転写を活性化することを見出した (Okuda *et al.*: *PLoS One* 2013)。増本班員は、出芽酵母で細胞

寿命が延長する *tdh2* 遺伝子欠損株では、NAD⁺合成代謝中間産物であるキノリン酸が増加すること、キノリン酸の増加は rDNA 領域中のヒストンを低アセチル化状態に維持することで、染色体の安定化および細胞寿命の延長に貢献することを見いだした (Hachinohe *et al.*: **PLoS One** 2013)。

「A02.クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響」

【計画研究】

安井班員は、DNA 二重鎖切断が転写を抑制する際に、ATM が転写伸長因子 ENL をリン酸化して Polycomb をリクルートするという新規の分子機構を発見した (Ui *et al.*: **Mol Cell** 2015)。また河野班員 (荻原・分担研究者) との共同研究によって SWI/SNF ファミリーの BAF 複合体では、癌で高頻度の変異が見つかった ARID1A と転写では同時に働かない ARID1B がいずれも X 線とシスプラチンの修復に必要であり、これらを欠損する癌細胞の治療に役立つ発見があった (Watanabe *et al.*: **Cancer Res** 2014)。河野班員 (荻原・分担研究者) は、クロマチン制御遺伝子 BRG1 失活がんの合成致死治療標的として BRM-ATPase タンパク質を同定した (Oike *et al.*: **Cancer Res** 2014; Oike *et al.*: **Cancer Res** 2013)。また安井班員との共同研究により、肺がんでは SWI/SNF クロマチン制御遺伝子群の失活変異が高頻度に生じていることを明らかにした (肺がんでは SWI/SNF クロマチン制御遺伝子群の失活変異が高頻度に生じていることを明らかにした (Saito *et al.*: **Cancer Res** 2015; Oike *et al.*: **Cancer Res** 2013; Oike *et al.*: **Jpn J Clin Oncol** 2013)。さらにクロマチン制御に関わるヒストンアセチルトランスフェラーゼの阻害が、がん細胞の抗がん剤・放射線治療の感受性を上昇させることを見出した (Ogiwara *et al.*: **Carcinogenesis** 2013)。さらに河野班員は、クロマチン制御遺伝子 BPTF の遺伝子多型が肺がんのリスクを規定し、危険アレル保持者は肺組織内での BPTF 遺伝子の mRNA 発現量が低いことを見出した (Shiraishi *et al.*: **Nat Genet** 2012)。山縣班員 (森岡・分担研究者) は、DNA ポリメラーゼ η の 4 次元構造を初めて低温トラップ時分割 X 線結晶構造解析により決定、これまで推定されていたものと異なる反応機構を明らかにした (Nakamura *et al.*: **Nature** 2012)。河野班員は、DNA 切断に対する *in vivo* 非相同末端結合修復アッセイ系を構築し、SWI/SNF 複合体と CBP タンパク質の同修復への関与を明らかにした (Ogiwara *et al.*: **Oncogene** 2011, Ogiwara *et al.*: **PLoS One** 2011)。安井班員は、河野班員と共同研究し、ATP 依存的クロマチンリモデリングのファミリーのうち ISWI ファミリーの ACF1 を含む複合体が DNA 二重鎖切断の NHEJ の修復タンパク質 KU の集積に重要で、KU と直接に結合し細胞の X 線抵抗性に必要なことを明らかにした (Lan *et al.*: **Mol Cell** 2010)。

なお河野班員は、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ遺伝子と CBP 遺伝子失活がんの合成致死治療標的について、特許出願を行った。(p300 を阻害する化合物によるがんの治療への応答性を予測する方法 [特願 2014-032928]、BRM を阻害する化合物によるがんの治療への応答性を予測する方法 [特願 2013-147061])。

【公募研究】

越阪部班員は、一種の塩基架橋損傷である 6-4 光産物を特定の位置に配置したヌクレオソームの X 線結晶構造解析に成功した。さらに、生化学的解析で得られた知見と組み合わせることで、クロマチン中における紫外線損傷塩基の認識機構の一端を明らかにした (Osakabe *et al.*: **Sci Rep** revised)。石合班員は、クロマチン上の FANCD2 の相互作用分子を同定する目的で、FLAG-HA-FANCD2 発現 HeLa 細胞を構築し、ヒドロシウレア処理で FA 経路を活性化させた細胞から、FANCD2 の結合分子をプロテオーム解析し、CtIP を同定した (井倉班員との共同研究) (Unno *et al.*: **Cell Rep** 2014)。足立班員は、最も重篤なゲノム損傷である DNA 二本鎖切断がヒト細胞内でどのように修復されるかについてのメカニズム解析を行い、ヒト Nalm-6 細胞を用いた解析から、DNA リガーゼ IV と Artemis が協調的に働いて、相同組換えを抑制していることが示唆された (Kurosawa *et al.*: **PLoS One** 2013)。また哺乳類細胞への遺伝子導入の方法として用いられている electroporation 法の条件を調整することによって、外来の DNA を低い細胞障害性で直接細胞核へ導入する方法を確立した (Kurosawa *et al.*: **Gene** 2012)。石合班員は、FANCD2 のヒストンシャペロン活性は、クロマチン上での FANCD2 の新規機能であり、この活性が直接クロマチンの動的変化を制御することを結論づけた (Sato *et al.*: **EMBO J** 2012)。白井班員は、出芽酵母の合成依存的 DNA 鎖アニーリングを介する相同組換え反応に、Irc20 と Srs2 の二つの DNA ヘリカーゼが必要なことを見出した (Miura *et al.*: **Genetics** 2012)。太田班員は、主に HERC2、Claspin、BRCA1 三者の相互作用が DNA 複製とチェックポイントを制御していることを明らかにした (Izawa *et al.*: **Cancer Res** 2011)。

「A03.修復と転写、修復と複製のカップリング機構」

【計画研究】

花岡班員、益谷・分担研究者は、紫外線損傷を乗り越える際に、DNA ポリメラーゼ・イータ (Pol ζ) イオタが異なる突然変異をもたらすことを見出した (Kanao *et al.*: **DNA Repair** 2015)。また複製クランプ PCNA のホモ三量体中の複数の分子が同時にモノユビキチン化されることにより、未知の損傷トレランス経路が活性化されることを明らかにした (Kanao *et al.*: **PLoS One** 2015)。田中 (亀) 班員は、CSA 複合体が PolIII をユビキチン化することを明らかにし、そのユビキチン化部位を特定した。この部位でユビキ

チン化が起こらない変異 PolII 発現細胞は UV 高感受性となり、TC-NER 能も低下した (論文投稿中)。井出班員は、DNA-タンパク質クロスリンク (DPC)の生物影響と修復機構解明に取り組み、アルデヒドおよび放射線誘発 DPC の除去動態を分析した。放射線はゲノムから除去されにくい DPC を主成分として誘発することを明らかにし、ゲノム不安定性への関与を示唆した (Nakano *et al.*: **Mutat Res** 2015)。またクロマチンリモデリングでは、リモデリング複合体 INO80 および SRCAP の共通サブユニット RUVBL2 をノックダウンし、DPC 誘発剤感受性を調べた。ノックダウン細胞は DPC 誘発剤に moderate な感受性を示し、相同組換え修復の障害が示唆された (Miyamoto-Matsubara *et al.*: **J Cancer Sci Ther** 2014)。さらに複製に対する影響では、DPC は複製ヘリカーゼの中心チャンネルを通過できないためヘリカーゼの進行を阻害し (helicase block), 従来の損傷 (polymerase block) とは異なるモードで複製を阻害することを示した (Nakano *et al.*: **JBC** 2013)。花岡班員は、体細胞超突然変異において、ヒト Polη が WA モチーフにおいて変異を起こすメカニズムを X 線結晶構造解析により明らかにした (Zhao *et al.*: **PNAS** 2013)。またヒト Polη によるシスプラチン耐性の構造生物学的な基盤が X 線結晶構造解析によって明らかとなった (Zhao *et al.*: **PNAS** 2012)。さらに Polη が UV 損傷の TLS を出来ない場合、REV1 を介して Polη が UV 損傷を誤りがちに乗り越える経路があることを示した (Ito *et al.*: **Genes Cells** 2012)。田中 (亀) 班員は新規 TC-NER 因子である UVSSA を同定した。UVSSA は脱ユビキチン化酵素 USP7 と複合体を形成し、CSA と UV 照射に関係なく相互作用し、CSB や Pol II とは UV 照射後クロマチン画分で相互作用した。UVSSA-USP7 複合体は UV 照射後の CSB の安定化と転写の回復に関与していた。また、USP7 の脱ユビキチン化活性は UVSSA との結合により低下し、UVSSA は USP7 との結合により安定化された。UVSSA はユビキチンリガーゼ活性をもち、自己モノユビキチン化が自身の安定化と UV 感受性に関与することを明らかにした (Zhang *et al.*: **Nat Genet** 2012)。井出班員は、転写鎖 DPC で RNA ポリメラーゼ (RNAP) の渋滞が起こり、進行を阻害された leading RNAP と後続の trailing RNAP は、ともに誤りがちな合成モードに変化し、未損傷鋳型上での転写エラー頻度が 100 倍以上増加することを示した (Nakano *et al.*: **JBC** 2012)。花岡班員及び益谷・分担研究者は、小松賢志博士との共同研究で、2 本鎖 DNA 切断の修復に関与する NBS1 が、ユビキチン系を介して TLS タンパク質を制御していることを見出した (Yanagihara *et al.*: **Mol Cell** 2011)。また米国 NIH の Wei Yang 博士との共同研究によって、ヒト Polη と CPD をもつ DNA との共結晶構造を解析し、正確な TLS を可能にする構造的基盤を明らかにした (Biertumpfel *et al.*: **Nature** 2010)。色素性乾皮症 D 群 (XPD)タンパク質は、基本転写及びヌクレオチド除去修復に必須の TFIIH のサブユニットの一つとして知られているが、田中 (亀) 班員は、XPD タンパク質が TFIIH 非依存的に MMS19 や MIP18 などと新規の XPD タンパク質複合体 (MMXD と命名) を形成し、それが染色体分配に関与すること、XP-D 及び XP-D/CS 患者細胞では染色体分配の異常が高頻度に認められることを明らかにした。XP や CS の高発がん性、早期老化に染色体分配の異常に関与していることを示唆した (Ito *et al.*: **Mol Cell** 2010)。

【公募班員】

山下班員は、花岡班員との共同研究で、DNA 再複製モデル細胞において Y-family ポリメラーゼ (Y-Pol) のメンバー (Polη, Poli, Polk, REV1) が複製部位に動員されること、また Y-Pol 各メンバーの発現を siRNA によって抑制すると、再複製による DNA 量の増加や複製フォークの進行速度が抑制された。興味深いことに、siRNA の組み合わせの効果は、Y-Pol メンバーが互いに共同しつつ、複製ポリメラーゼと独立して DNA 再複製に関与することを示唆した。これらの結果は再複製の新たな仕組みを明らかにするものである (Sekimoto *et al.*: **Mol Cell Biol** 2015)。西谷班員は、クロマチンに結合した PCNA に依存して DNA 損傷時と S 期 DNA 複製時に機能するユビキチンリガーゼ CRL4-Cdt2 による紫外線照射後の Cdt1 分解と S 期 DNA 複製の関わりを解析し、M 期に紫外線照射を受けた細胞が G1 期に進行すると、Cdt1 が分解されて複製のライセンス化が抑制され、これが G1 期停止を促進して細胞の生存を助けることを明らかにした (Morino *et al.*: **PLoS One** 2015)。また、Cdt1 の分解の際に必要な PCNA のクロマチン装着 (ローディング) について 3 種存在する RFC 複合体を解析し、紫外線損傷時には Rfc1-RFC が、S 期には Ctf18-RFC が関わり、使い分けが行なわれていることを見出した (Shiomi & Nishitani, **Genes Cells** 2013)。西山班員は、ツメガエル卵無細胞系を用いて、DNA 複製に伴う DNA メチル化パターン維持の分子機構を詳細に明らかにした。その結果、ヘミメチル化 DNA 結合タンパク質 UHRF1 によるヒストン H3 リジン 23 のユビキチン化という新規のヒストン修飾の発見、ユビキチン化 H3 と DNA メチル化酵素 1 (DNMT1) の相互作用を示した。またそれに付随して、DNMT1 が脱ユビキチン化酵素 USP7 と相互作用すること、脱ユビキチン化酵素活性が DNA メチル化の過程で重要な役割を果たしていることを見出した。USP7 の抑制が脱ユビキチン化酵素阻害剤と同様の効果を示すことから、USP7 が DNA メチル化を制御する主な脱ユビキチン化酵素であると考えられる (Nishiyama *et al.*: **Nature** 2013)。西谷班員は、Elg1 複合体が PCNA の装脱 (アンローディング) に関わり、ゲノムの安定維持に重要な働きをすることを見いだした (Shiomi *et al.*: **Mol Cell Biol** 2012)。DNA 複製フォークが通過後、染色体部位特異的なヒストンメチル化修飾は新規に形成されたヌクレオソームに導入される。増本班員は、このメチル化修飾の導入はクロマチン因子が

新規ヌクレオソームへの結合の有無に依存することを明らかにした (Masumoto *et al.*: **PLoS One** 2012)。出芽酵母の REV1 は、翻訳後修飾によって制御されていることが分かっているが、高等生物ではまだよく分かっていない。そこで山下班員は REV1 を制御する分子をその結合分子をサーチすることによって探索し、Hsp90 をピックアップした。Hsp90 阻害剤処理により、REV1 のタンパク質レベルは減少した。この現象はプロテアソームによる分解とリンクしており、また UV 誘発突然変異の低下を伴っていた。HSP90 は、REV1 を機能的なフォームに保つために働いており、それによってモノユビキチン化 PCNA との結合に寄与している。したがって HSP90 は TLS を介した突然変異に働いている (Pozo *et al.*: **Mol Cell Biol** 2011) (花岡班員との共同研究)。

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

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。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。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。また、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。

【主な論文】

A01.ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究

【計画研究】

1. *Suzuki, H., Maeda, R., Ura, K., and *Tamura, T. TBP-like protein (TLP) interferes with Taspase1-mediated processing of TFIIA and represses TATA box gene expression. **Nucleic Acids Res.** *in press*.
2. Akita, M., Tak, Yon-Soo., Shimura, T., Matumoto, S., Okuda-Shimuzu, Y., Shimizu, Y., Nishi, R., Saitoh, H., Iwai, S., Mori, T., Ikura, T., Sakai, W., Hanaoka, E., and Sugawara, K. (2015) SUMOylation of xeroderma pigmentosum group C regulates DNA damage recognition during nucleotide excision repair. **Sci. Rep.** *in press*.
3. Ahmed, M., Ura, K., and *Streit, A. (2015) Auditory hair cell defects as potential cause for sensorineural deafness in Wolf-Hirschhorn syndrome. **Disease Models Mech.** *in press*.
4. Hosono, Y., Abe, T., Higuchi, M., Kajii, K., Sakuraba, S., Tada, S., Enomoto, T., and *Seki, M. (2014) Tipin functions in the protection against topoisomerase I inhibitor. **J. Biol. Chem.** 289, 11374-11384.
5. Hosono, Y., Abe, T., Ishiai, M., Islam, M.N., Arakawa, H., Wang, W., Takeda, S., Ishii, Y., Takata, M., *Seki, M., and *Enomoto, T. (2014) Tumor suppressor RecQL5 controls recombination induced by DNA crosslinking agents. **Biochim. Biophys. Acta.** 1843, 1002-1012.
6. Nakabayashi, Y., Kawashima, S., Enomoto, T., *Seki, M., and *Horikoshi, M. (2014) Roles of common subunits within distinct multisubunit complexes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 111, 699-704.
7. Machida, S., Takaku, M., Ikura, M., Sun, J., Suzuki, H., Kobayashi, W., Kinomura, A., Osakabe, A., Tachiwana, H., Horikoshi, Y., Fukuto, A., Matsuda, R., Ura, K., Tashiro, S., Ikura, T., and *Kurumizaka, H. (2014) Nap1 stimulates homologous recombination by RAD51 and RAD54 in higher-ordered chromatin containing histone H1. **Sci. Rep.** 4:4863. doi: 10.1038/srep04863.
8. Sarai, N., Nimura, K., Tamura, T., Kanno, T., Patel M.C., Heightman T. D., Ura, K. and *Ozata, K. (2013) WHSC1 links transcription elongation to HIRA-mediated histone H3.3 deposition in activated genes. **EMBO J.** 32, 2392-2406.
9. Shima, H., Suzuki, H., Sun, J., Kono, K., Shi, L., Kinomura, A., Horikoshi, Y., Ikura, T., Ikura, M., Kanaar, R., Igarashi, K., Saitoh, H., Kurumizaka, H., and *Tashiro, S. (2013) Activation of the SUMO modification system is required for the accumulation of RAD51 at sites containing DNA damage. **J. Cell Sci.** 126, 5284-5292.
10. Tomida, J., Itaya, A., Shigechi, T., Unno, J., Uchida, E., Ikura, M., Masuda, Y., Matsuda, S., Adachi, J., Kobayashi, M., Meetei, A.R., Maehara, Y., Yamamoto, K.I., Kamiya, K., Matsuura, A., Matsuda, T., Ikura, T., Ishiai, M., *Takata, M. (2013). A novel interplay between the Fanconi anemia core complex and ATR-ATRIP kinase during DNA cross-link repair. **Nucleic Acids Res.** 49, 6930-6941.
11. Endo, H., Nakabayashi, Y., Kawashima, S., Enomoto, T., *Seki, M., and *Horikoshi, M. (2012) Nucleosome surface containing nucleosomal DNA entry/exit site regulates H3-K36me3 *via* association with RNA polymerase II and Set2. **Genes Cells** 17, 65-81.
12. Hartlerode, A., Guan, Y., Rajendran, A., Ura, K., Schotta, G., Xie, A., Shah, J., and *Scully R. (2012) Impact of histone H4 lysine 20 methylation on 53BP1 responses to chromosomal double strand breaks, **PLoS One**, 7(11), e49211.
13. Kawashima, S., Nakabayashi, Y., Matsubara, K., Sano, N., Enomoto, T., Tanaka, K., *Seki, M., *Horikoshi, M. (2011) Global analysis of core histones reveals nucleosomal surfaces required for chromosome bi-orientation. **EMBO J.** 30, 3353-3367.
14. Ishikawa, K., Ohsumi, T., Tada, S., Natsume, R., Kundu, L-R., Nozaki, N., *Senda, T., *Enomoto, T., *Horikoshi, M., *Seki, M. (2011) The roles of histone chaperone CIA/Asf1 in nascent DNA elongation during nucleosome replication. **Genes Cells** 16, 1050-1062.
15. Abe, T., Sugimura, K., Hosono, Y., Takami, Y., Akita, M., Yoshimura, A., Tada, S., Nakayama, T., Murofushi,

H., Okumura, K., Takeda, S., *Horikoshi, M., *Seki, M., *Enomoto, T. (2011) The histone chaperone FACT maintains normal replication fork rates. **J. Biol. Chem.** 286, 30504-30512.

16. Kashiwagi, K., Nimura, K., *Ura, K. and Kaneda, Y. (2011) DNA methyltransferase 3b preferentially associates with condensed chromatin. **Nucleic Acids Res.** 39, 874-888.
17. Takaku, M., Tsujita, T., Horikoshi, N., Takizawa, Y., Qing, Y., Hirota, K., Ikura, M., Ikura, T., Takeda, S., *Kurumizaka, H. (2011) Purification of the human SMN-GEMIN2 complex and assessment of its stimulation of RAD51-mediated DNA recombination reactions. **Biochemistry** 50, 6797-6805.

【公募研究】

18. Fukasawa, R., Iida, S., Tsutsui, T., Hirose, Y., and *Ohkuma, Y. (2015) Mediator complex cooperatively regulates transcription of retinoic acid target genes with Polycomb Repressive Complex 2 during neuronal differentiation. **J. Biochem.** *in press*.
19. Iida, S., Chen, W., Nakadai, T., Ohkuma, Y., and *Roeder, R.G. (2015) PRDM16 enhances nuclear receptor-dependent transcription of the brown fat-specific *Ucp1* gene through interactions with MED1 subunit of the Mediator. **Genes Dev.** 29, 308-321.
20. Tanaka, A., Akimoto, Y., Kobayashi, S., Hisatake, K., Hanaoka, F., and *Ohkuma, Y. (2015) Association of the winged helix motif of the TFIIIE α subunit of TFIIIE with either the TFIIIE β Subunit or TFIIIB distinguishes its functions in transcription. **Genes Cells** 20, 203-216.
21. Kikuchi, Y., Umemura, H., Nishitani, S., Iida, S., Fukasawa, R., Hayashi, H., Hirose, Y., Tanaka, A., Sugawara, K., and *Ohkuma, Y. (2015) Human mediator MED17 subunit plays essential roles in gene regulation by associating with both transcription and DNA repair machineries. **Genes Cells** 20, 191-202.
22. Sasatani, M., Xu, Y., Kawai, H., Cao, L., Tateishi, S., Shimura, T., Li, J., Iizuka, D., Noda, A., Hamasaki, K., Kusunoki, Y., and *Kamiya, K. (2015) RAD18 activates the G2/M checkpoint through DNA damage signaling to maintain genome integrity after ionizing radiation exposure. **PLoS One** 10(2): e0117845.
23. Kato, K., Nakajima, K., Ui, A., Muto-Terao, Y., Ogiwara, H., and *Nakada, S. (2014) Fine-tuning of DNA damage-dependent ubiquitination by OTUB2 supports the DNA repair pathway choice. **Mol. Cell** 53, 617-630.
24. Okuda, H., Ohdan, H., Nakayama, M., Koseki, H., Nakagawa, T., and *Ito, T. (2013) The USP21 short variant (USP21SV) lacking NES, located mostly in the nucleus in vivo, activates transcription by deubiquitylating ubH2A *in vitro*. **PLoS One** 8(11):e79813.
25. Hachinohe, M., Yamane, M., Akazawa, D., Ohsawa, Ohno, M. H. Terashita, Y. and *Masumoto, H. (2013) A reduction of in age-enhanced gluconeogenesis extends lifespan, **PLoS One** 8(1), e54011.
26. *Tanaka, S., Komeda, Y., Umemori, T., Kubota, Y., Takisawa, H., and Araki, H. (2013). Efficient initiation of DNA replication in eukaryotes requires Dpb11/TopBP1-GINS interaction. **Mol. Cell. Biol.** 33, 2614-2622.
27. *Masumoto, H., Nakato, R., Kanemaki, M., Shirahige, K., and Hachinohe, M. (2012) The inheritance of histone modifications depends upon the location in the chromosome in *Saccharomyces cerevisiae*, **PLoS One** 6(12), e28980.
28. Hachinohe, M., Hanaoka, F., and *Masumoto, H. (2011) Hst3 and Hst4 histone deacetylases regulate replicative lifespan by preventing genome instability in *Saccharomyces cerevisiae*, **Genes Cells** 16, 467-477.

A02.クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響

【計画研究】

29. Saito, M., Shimada, Y., Shiraishi, K., Sakamoto, H., Tsuta, K., Totsuka, H., Chiku, S., Ichikawa, H., Kato, M., Watanabe, S., Yoshida, T., Yokota, J., and Kohno, T. (2015) Development of lung adenocarcinomas with exclusive dependence on oncogene fusions. **Cancer Res.** *in press*.
 30. *Ui, A., Nagaura, Y., and *Yasui, A. (2015) Transcriptional elongation factor ENL phosphorylated by ATM recruits Polycomb and switches off transcription for DSB repair. **Mol. Cell** 58, 468-482.
 31. Watanabe, R., Ui, A., Kanno, S.I., Ogiwara, H., Nagase, T., Kohno, T., and *Yasui, A. (2014) SWI/SNF factors required for cellular resistance to DNA damage include ARID1A and ARID1B and show interdependent protein stability, **Cancer Res.** 74, 2465-2475.
 32. Ui, A., Ogiwara, H., Nakajima, S., Kanno, S.I., Watanabe, R., Harata, M., Okayama, H., Harris, C.C., Yokota, J., Yasui, A. and *Kohno, T. (2014) Possible involvement of LKB1-AMPK signaling in non-homologous end joining. **Oncogene** 33, 1640-1648.
 33. Lan, L., Nakajima, S., Wei, L., Sun, L., Hsieh, C.L., Sobol, R.W., Bruchez, M., van Houten, B., Yasui, A., and *Levine, A.S. (2014) Novel method for site-specific induction of oxidative DNA damage reveals differences in recruitment of repair proteins to heterochromatin and euchromatin. **Nucleic Acids Res.** 42, 2330-2345.
- 1.Matsuzawa, A., Kanno, S.I., Nakayama, M., Mochiduki, H., Wei, L., Shimaoka, T., Furukawa, Y., Kato, K.,

34. Shibata, S., Yasui, A., Ishioka, C., and *Chiba, N. (2014) The BRCA1/BARD1-interacting protein OLA1 functions in centrosome regulation. **Mol. Cell** 53, 101-14.
35. Oike, T., Ogiwara, H., Amornwicheit, N., Nakano, T., and *Kohno, T. (2014) Chromatin-regulating proteins as targets for cancer therapy. **J. Radiat. Res.** 55, 613-628.
- ©36. Oike, T., Komachi, M., Ogiwara, H., Amornwicheit, N., Saitoh, Y., Torikai, K., Kubo, N., Nakano, T., and *Kohno, T. (2014) C646, a selective small molecule inhibitor of histone acetyltransferase p300, radiosensitizes lung cancer cells by enhancing mitotic catastrophe. **Radiother. Oncol.** 111, 222-227.
37. Mizukami, T., Shiraishi, K., Shimada, Y., Ogiwara, H., Tsuta, K., Ichikawa, H., Sakamoto, H., Kato, M., Shibata, T., Nakano, T., and *Kohno, T. (2014) Molecular mechanisms underlying oncogenic RET fusion in lung adenocarcinoma. **J. Thoracic Oncol.** 9, 622-630.
38. Wei, L., Nakajima, S., Hsieh, CL., Kanno, S.I., Masutani, M., Levine, A.S., Yasui, A., and *Lan L. (2013) Damage response of XRCC1 at sites of DNA single strand breaks is regulated by phosphorylation and ubiquitylation after degradation of poly(ADP-ribose). **J Cell Sci.** 126, 4414-4423.
39. Ogiwara, H., Ui, A., Shiotani, B., Zou, L., Yasui, A., and *Kohno, T. (2013) Curcumin suppresses multiple DNA damage response pathways and has potency as a sensitizer to PARP inhibitor. **Carcinogenesis**, 34, 2486-2497.
40. Toga, T., Kuraoka, I., Yasui, A., and *Iwai, S. (2013) A transfection reporter for the prevention of false-negative results in molecular beacon experiments. **Anal. Biochem.** 440, 9-11.
41. Hong, Z., Jiang, J., Ma, J., Dai, S., Xu, T., Li, H., and Yasui, A. (2013) The role of hnRPU1 involved in DNA damage response is related to PARP1. **PLoS One** 8(4):e60208.
42. Ogiwara, H., Ui, A., Shiotani, B., Zou, L., Yasui, A., and *Kohno, T. (2013) Curcumin suppresses multiple DNA damage response pathways and has potency as a sensitizer to PARP inhibitor. **Carcinogenesis**, 34(11):2486-2497.
43. Oike, T., Ogiwara, H., Tominaga, Y., Ito, K., Ando, O., Tsuta, K., Mizukami, T., Shimada, Y., Isomura, H., Komachi, M., Furuta, K., Watanabe, SI., Nakano, T., Yokota, J., and *Kohno, T. (2013) A synthetic lethality-based strategy to treat cancers harboring a genetic deficiency in the chromatin remodeling factor BRG1. **Cancer Res.** 73:5508-5518.
44. *Nakamura, T., Zhao Y., Yamagata, Y., Hua, Y.J., and Yang, W. (2013) Mechanism of the nucleotidyl-transfer reaction in DNA polymerase revealed by time-resolved protein crystallography. **Biophysics** 9, 31-36.
45. Ogiwara, H., and *Kohno, T. (2012) CBP and p300 histone acetyltransferases contribute to homologous recombination by transcriptionally activating the BRCA1 and RAD51 genes. **PLoS One** 7(12): e52810.
46. *Kohno, T., Ichikawa, H., Totoki, Y., Yasuda, K., Hiramoto, M., Nammo, T., Sakamoto, H., Tsuta, K., Furuta, K., Shimada, Y., Iwakawa, R., Ogiwara, H., Oike, T., Enari, M., Schetter, A.J., Okayama, H., Haugen, A., Skaug, V., Chiku, S., Yamanaka, I., Arai, Y., Watanabe, S., Sekine, I., Ogawa, S., Harris, CC., Tsuda, H., Yoshida, T., Yokota, J., and Shibata, T. (2012) KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. **Nature Medicine** 18, 375-377.
47. Shiraishi, K., Kunitoh, H., Daigo, Y., Takahashi, A., Goto, K., Sakamoto, H., Ohnami, S., Shimada, Y., Ashikawa, K., Saito, A., Watanabe, S., Tsuta, K., Kamatani, N., Yoshida, T., Nakamura, Y., Yokota, J., Kubo, M., and *Kohno, T. (2012) A genome-wide association study identifies two new susceptibility loci for lung adenocarcinoma in the Japanese population. **Nature Genetics** 44, 900-903.
48. Nakamura, T., Zhao, Y., Yamagata, Y., Hua, Y-J., and *Yang, W. (2012) Watching DNA polymerase η make a phosphodiester bond. **Nature** 487, 196-202.
49. Takagi, Y., Setoyama, D., Ito, R., Kamiya, H., Yamagata, Y., and *Sekiguchi, M. (2012) Human MTH3 (NUDT18) hydrolyzes the oxidized forms of guanosine and deoxyguanosine diphosphates: A comparison with MTH1 and MTH2. **J. Biol. Chem.** 287, 21541-24549.
50. Li, S., Kanno, SI., Watanabe, R., Ogiwara, H., Kohno, T., Watanabe, G., Yasui, A. and *Lieber, MR. (2011) PALF acts as both a single-stranded DNA endonuclease and a single-stranded DNA 3'-exonuclease and can participate in DNA end joining in a biochemical system. **J. Biol. Chem.** 286, 36368-36377.
51. Zlatanou, A., Despras, E., Braz-Petta, T., Boubakour-Azzouz, I., Pouvelle, C., Stewart, G.S., Nakajima, S., Yasui, A., Ishchenko, A.A., and *Kannouche, P.L. (2011) The hMsh2-hMsh6 complex acts in concert with monoubiquitinated PCNA and Pol η in response to oxidative DNA damage in human cells. **Mol. Cell** 43, 649-662.
52. Ogiwara, H., and *Kohno, T. (2011) Essential factors for incompatible DNA end joining at chromosomal DNA double strand breaks *in vivo*. **PLoS One** 6(12) e28756.

53. Ogiwara, H., Ui, A., Otsuka, A., Satoh, H., Yokomi, I., Nakajima, S., Yasui, A., Yokota, J., and *Kohno, T. (2011) Histone acetylation by CBP and p300 at double strand break sites facilitates SWI/SNF chromatin remodeling and the recruitment of non-homologous end joining factors. **Oncogene** 30, 2135-2146.
54. Arimori, T., Tamaoki, H., Nakamura, T., Kamiya, H., Ikemizu, S., Takagi, Y., Ishibashi, T., Harashima, H., Sekiguchi, M., and *Yamagata, Y. (2011) Diverse substrate recognition and hydrolysis mechanisms of human NUDT5. **Nucleic Acids Res.** 39, 8972-8983.
55. Isogai, S., Kanno, SI., Ariyoshi, M., Tochio, H., Ito, Y., Yasui, A., and *Shirakawa, M. (2010) Solution structure of a zinc-finger domain that binds to poly-ADP-ribose. **Genes Cells** 15, 101-110.
56. Lan, L., Ui, A., Nakajima, S., Hatakeyama, K., Hoshi, M., Watanabe, R., Janicki, SM., Ogiwara, H., Kohno, T., Kanno, SI., and *Yasui, A. (2010) The ACF1 complex is required for DNA double-strand break repair in human cells. **Mol. Cell** 40, 976-987.

【公募研究】

- ◎57. Unno, J., Itaya, A., Taoka, M., Sato, K., Tomida, J., Sakai, W., Sugasawa, K., Ishiai, M., Ikura, T., Isobe, T., Kurumizaka, H. and *Takata, M. (2014) FANCD2 binds CtIP and regulates DNA-end resection during DNA interstrand crosslink repair. **Cell Rep.** 7, 1039-1047.
58. Osakabe, A., Takahashi, Y., Murakami, H., Otawa, K., Tachiwara, H., Oma, Y., Nishijima, H., Shibahara, K. I., *Kurumizaka, H., and *Harata M. (2014) DNA binding properties of the actin-related protein Arp8 and its role in DNA repair. **PLoS One** 9(10), e108354.
59. Kurosawa, A., Saito, S., So, S., Hashimoto, M., Iwabuchi, K., Watabe, H., and *Adachi, N. (2013) DNA ligase IV and Artemis act cooperatively to suppress homologous recombination in human cells: Implications for DNA double-strand break repair. **PLoS One** 8, e72253.
60. Sato, K., Ishiai, M., (+ equal contribution), Toda, K., Furukoshi, S., Osakabe, A., Tachiwara, H., Takizawa, Y., Kagawa, W., Kitao, H., Dohmae, N., Obuse, C., Kimura H., *Takata, M. and *Kurumizaka H. (2012) Histone chaperon activity of Fanconi anemia proteins, FANCD2 and FANCI, is required for DNA crosslink repair. **EMBO J.** 31, 3524-3536.
61. Miura, T., Yamana, Y., Usui, T., Ogawa, H.I., Yamamoto, M.T., and *Kusano, K. (2012) Homologous recombination via synthesis-dependent strand annealing in yeast requires the Irc20 and Srs2 DNA helicases. **Genetics** 191, 65-78.
62. Izawa, N., Wu, W., Sato, K., Nishikawa, H., Kato, A., Boku, N., Itoh, F., and *Ohta, T. (2011) HERC2 interacts with claspin and regulates DNA origin firing and replication fork progression. **Cancer Res.** 71, 5621-5625.

A03.修復と転写、修復と複製のカップリング機構

【計画研究】

63. Kanao, R., Yokoi, M., Ohkumo, T., Sakurai, Y., Dotsu, K., Kura, S., Nakatsu, Y., Tsuzuki, T., Masutani, C., and *Hanaoka, F. (2015) UV-induced mutations in the epidermal cells of mice defective in DNA polymerase η and/or ι . **DNA Repair (Amst.)** 29, 139-146.
64. Kanao, R., Masuda, Y., Deguchi, S., Yumoto-Sugimoto, M., Hanaoka, F., and *Masutani, C. (2015) Relevance of simultaneous mono-ubiquitinations of multiple units of PCNA homo-trimers in DNA damage tolerance. **PLoS One** 10(2):e0118775.
- ◎65. Matsumoto, S., Fischer, E.S., Yasuda, T., Dohmae, N., Iwai, S., Mori, T., Nishi, R., Yoshino, K., Sakai, W., Hanaoka, F., Thoma, N.H., and *Sugasawa, K. (2015) Functional regulation of the DNA damage-recognition factor DDB2 by ubiquitination and interaction with xeroderma pigmentosum group C protein. **Nucleic Acids Res.** 43, 1700-1713.
66. Horibata, K., Kono, S., Ishigami, C., Zhang, X., Aizawa, M., Kako, Y., Ishii, T., Kosaki, R., Saijo, M., and *Tanaka, K. (2015) Constructive rescue of TFIIF instability by an alternative isoform of XPD derived from a mutated XPD allele in mild but not severe XP-D/CS. **J. Human Genetics** 60, 259-265.
67. Tokuyama, Y., Furusawa, Y., Ide, H., Yasui, A., and *Terato H. (2015) Role of isolated and clustered DNA damage and the post-irradiating repair process in the effects of heavy ion beam irradiation. **J. Radiat. Res.** 56, 446-455.
68. Nakano, T., Mitsusada, Y., Salem, A., Shoukamy, M., Sugimoto, T., Hirayama, R., Uzawa, A., Furusawa, Y., and *Ide, H. (2015) Induction of DNA-protein cross-links by ionizing radiation and their elimination from the genome. **Mutat. Res.** 771, 45-50.
69. *Ikehata, H., Chang, Y., Yokoi, M., Yamamoto, M., and Hanaoka, F. (2014) Remarkable induction of UV-signature mutations at the 3'-cytosine of dipyrimidine sites except at 5'-TCG-3' in the UVB-exposed skin

- epidermis of xeroderma pigmentosum variant model mice. **DNA Repair** 22, 112-122.
- ©70. Kamath-Loeb, A.S., Balakrishna, S., Whittington, D., Shen, J.C., Emond, M.J., Okabe, T., Masutani, C., Hanaoka, F., Nishimura, S. and *Loeb, L.A. (2014) Sphingosine, a modulator of human translesion DNA polymerase activity. **J. Biol. Chem.** 289, 21663-21672.
- ©71. Shibutani, T., Ito, S., Toda, M., Kanao, R., Collins, L.B., Shibata, M., Urabe, M., Koseki, H., Masuda, Y., Swenberg, J.A., Masutani, C., Hanaoka, F., Iwai, S., and *Kuraoka, I. (2014) Guanine-5-carboxylcytosine base pairs mimic mismatches during DNA replication. **Sci. Rep.** 4, 5220. doi: 10.1038/srep05220.
72. *Tanaka, K. (2014) Our research over the past 40 years on the mechanisms underlying and disorders associated with nucleotide excision repair. **Photomed. Photobiol.** 36, 11-18.
73. Wakasugi, M., Sasaki, T., Matsumoto, M., Nagaoka, M., Inoue, K., Inobe, M., Horibata, K., Tanaka, K., and *Matsunaga, T. (2014) Nucleotide excision repair-dependent DNA double-strand break formation and ATM signaling activation in mammalian quiescent cells. **J. Biol. Chem.** 289: 28730-28737.
74. Miyamoto-Matsubara, M., Han, Y., Ono, K., Xie, M., Salem, A., Shoukamy, M., Nakano, T., and *Ide, H. (2014) Depletion of RUVBL2 in human cells confers moderate sensitivity to anticancer agents. **J. Cancer Sci. Ther.** 6, 440-445.
75. Zhao, Y., Gregory, M.T., Biertumpfel, C., *Hua, Y.J., *Hanaoka, F., and *Yang, W. (2013) Mechanism of somatic hypermutation at the WA motif by human DNA polymerase η . **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 110, 8146-8151.
76. *Seki, M., Takeda, Y., Iwai, K., and *Tanaka, K. (2013) IOP1 is an external component of human CIA machinery and functions in MMS19-dependent CIA pathway. **J. Biol. Chem.** 288, 16680-16689.
77. Nakano, T., Miyamoto-Matsubara, M., Shoukamy, M.I., Salem, A.H.M., Pack, S.P., Ishimi, Y., *Ide, H. (2013) Translocation and stability of replicative DNA helicases upon encountering DNA-protein cross-links. **J. Biol. Chem.** 288, 4649-4658.
78. *Masuda, Y., Suzuki, M., Kawai, H., Hishiki, A., Hashimoto, H., Masutani, C., Hishida, T., Suzuki, F., and *Kamiya, K. (2012) *En bloc* transfer of polyubiquitin chains to PCNA *in vitro* is mediated by two different human E2-E3 pairs. **Nucleic Acids Res.** 40, 10394-10407.
79. Zhao, Y., Biertumpfel, C., Gregory, M.T., Hua, Y.J., Hanaoka, F., and *Yang, W. (2012) Structural basis of human DNA polymerase η -mediated chemoresistance to cisplatin. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 109, 7268-7274.
80. Hashimoto, K., Cho, Y., Yang, I.Y., Akagi, J., Ohashi, E., Tateishi, S., de Wind, N., Hanaoka, F., Ohmori, H., and *Moriya, M. (2012) The vital role of polymerase zeta and REV1 in mutagenic, but not correct, DNA synthesis across benzo[a]pyrene-dG and recruitment of polymerase zeta by REV1 to replication-stalled site. **J. Biol. Chem.** 287, 9613-9622.
81. Ito, W., Yokoi, M., (+ equal contribution), Sakayoshi, N., Sakurai, Y., Akagi, J., Mitani, H., and *Hanaoka, F. (2012) Stalled Pol η at its cognate substrate initiates an alternative translesion synthesis pathway via interaction with REV1. **Genes Cells** 17, 97-108.
82. Zhang, X., Horibata, K., Saijo, M., Ishigami, C., Ukai, A., Kanno, S.I., Tahara, H., Neilan, E.G., Honma, M., Nohmi, T., Yasui, A., and *Tanaka, K. (2012) Mutations in *KIAA1530/UVSSA* cause UV-sensitive syndrome destabilizing CSB in transcription-coupled DNA repair. **Nature Genetics** 44, 593-597.
83. Shoukamy, M.I., Nakano, T., Ohshima, M., Hirayama, R., Uzawa, A., Furusawa, Y., and *Ide, H. (2012) Detection of DNA-protein crosslinks (DPCs) by novel direct fluorescence labeling methods: distinct stabilities of aldehyde and radiation-induced DPCs. **Nucleic Acids Res.** 40(18), e143.
84. Nakano, T., Ouchi, R., Kawazoe, J., Pack, S.P., Makino, K., and *Ide, H. (2012) T7 RNA polymerases backed up by covalently trapped proteins catalyze highly error prone transcription, **J. Biol. Chem.** 287, 6562-6572.
85. Fischer, E.S., Scrima, A., Böhm, K., Matsumoto, S., Lingaraju, G.M., Faty, M., Yasuda, T., Cavadini, S., Wakasugi, M., Hanaoka, F., Iwai, S., Gut, H., Sugasawa, K., and *Thomä, N.H. (2011) The molecular basis of CRL4^{DDB2/CSA} ubiquitin ligase architecture, targeting, and activation. **Cell** 147, 1024-1039.
86. Yanagihara, H., Kobayashi, J., Tateishi, S., Kato, A., Matsuura, S., Tauchi, H., Yamada, K., Takezawa, J., Sugasawa, K., Masutani, C., Hanaoka, F., Weemaes, C.M., Mori, T., Zou, L., and *Komatsu, K. (2011) NBS1 recruits RAD18 via a RAD6-like domain and regulates Pol η -dependent translesion DNA synthesis. **Mol. Cell** 43, 788-797.
87. *Saijo, M., Takedachi, A., *Tanaka, K. (2011) Nucleotide excision repair by mutant xeroderma pigmentosum group A (XPA) proteins with deficiency in interaction with RPA. **J. Biol. Chem.** 286, 5476-5483.
88. Horibata, K., Saijo, M., Bay, M. N., Lan, L., Kuraoka, I., Brooks, P. J., Honma, M., Nohmi, T., Yasui, A., and

- *Tanaka, K. (2011) Mutant Cockayne syndrome group B protein inhibits repair of DNA topoisomerase I-DNA covalent complex. **Genes to Cells** 16, 101-114.
89. *Ide, H., Shoukamy, M.I., Nakano, T., Miyamoto-Matsubara, M., and Salem, A. (2011) Repair and biochemical effects of DNA-protein crosslinks. **Mutat. Res.** 771, 113-122.
90. Hirota, K., Sonoda, E., Kawamoto, T., Motegi, A., Masutani, C., Hanaoka, F., Szüts, D., Iwai, S., Sale, J. E., Lehmann, A., and *Takeda, S. (2010) Simultaneous disruption of two DNA polymerases, Pol eta and Pol zeta, in avian DT40 cells unmasks the role of Pol eta in cellular response to various DNA lesions. **PLoS Genet.** 6, e1001151.
91. Biertümpfel, C., Zhao, Y., Kondo, Y., Ramon-Maiques, S., Gregory, M., Lee, J.Y., Masutani, C., Lehmann, A.R., *Hanaoka, F., and *Yang, W. (2010) Structure and mechanism of human DNA polymerase η . **Nature** 465, 1044-1049.
92. Chijiwa, S., Masutani, C., Hanaoka, F., Iwai, S., and *Kuraoka, I. (2010) Polymerization by DNA polymerase eta is blocked by cis-diamminedichloroplatinum(II) 1,3-d(GpTpG) cross-link: implications for cytotoxic effects in nucleotide excision repair-negative tumor cells. **Carcinogenesis** 31, 388-393.
93. Ito, S., Tan, L. J., Andoh, D., Narita, T., Seki, M., Hirano, Y., Narita, K., Kuraoka, I., Hiraoka, Y., and *Tanaka, K. (2010) MMXD, a TFIIH-independent XPD-MMS19 protein complex involved in chromosome segregation. **Mol. Cell** 39, 632-640.
94. Matsumoto, N., Toga, T., Hayashi, R., Sugawara, K., Katayanagi, K., Ide, H., Kuraoka, I., and *Iwai, S. (2010) Fluorescent probes for the analysis of DNA strand scission in base excision repair. **Nucleic Acids Res.** 38, e101.
- 【公募研究】**
95. Sekimoto, T., Oda, T., Kurashima, K., Hanaoka, F., and *Yamashita, T. (2015) Both high-fidelity replicative and low-fidelity Y-family polymerases are involved in DNA rereplication. **Mol. Cell. Biol.** 35:699-715.
96. Sanuki, Y., Kubota, Y., Kanemaki, M.T., Takahashi, T.S., Mimura, S., and *Takisawa, H. (2015). RecQ4 promotes the conversion of the pre-initiation complex at a site-specific origin for DNA unwinding in *Xenopus* egg extracts. **Cell Cycle** 14, 1010–1023.
97. Morino, M., Nukina, K., Sakaguchi, H., Maeda, T., Takahara, M., Shiomi, Y., and *Nishitani, H. (2015) Mitotic UV irradiation induces a DNA replication-licensing defect that potentiates G1 arrest response. **PLoS One** 10(3):e0120553. doi: 10.1371/journal.pone.0120553. eCollection.
- ©98. Tan K.W., Pham M.T., Furukohri A, Maki H. and Akiyama T.M*. (2015) Recombinase and translesion DNA polymerase decrease the speed of replication fork progression during the DNA damage response in *Escherichia coli* cells. **Nucleic Acids Res.** 43, 1714-1725.
99. Slenn, T.J., Morris, B., Havens, C.G., Freeman, R.M., Takahashi, T.S., and *Walter, J.C. (2014). Thymine DNA glycosylase is a CRL4Cdt2 substrate. **J. Biol. Chem.** 289, 23043–23055.
- ©100. Ikeda, M., *Furukohri, A., Philippin, G., Loechler, E., Akiyama, MT., Katayama, T., *Fuchs, RP., and *Maki, H. (2014) DNA polymerase IV mediates efficient and quick recovery at N2-dG adducts. **Nucleic Acids Res.** 42, 8461-8472.
101. Nakayama T, Mihara K, Kawata J, Kimura H, and *Saitoh H. (2014) Adhesion of suspension cells on a coverslip in serum-free conditions. **Anal. Biochem.** 466:1-3.
102. Saito, C., Shinzawa, K. and *Tsujimoto, Y. (2014) Synchronized necrotic death of attached hepatocytes mediated via gap junction. **Sci. Rep.** 4, 5169-5176.
103. *Ohashi, E., Takeishi, Y., Ueda, S., and Tsurimoto, T. (2014) Interaction between Rad9-Hus1-Rad1 and TopBP1 activates ATR-ATRIP and promotes TopBP1 recruitment to sites of UV-damage. **DNA Repair (Amst)** 21, 1-11
104. Rodriguez-Bravo, V., Maciejowski, J., Corona, J., Buch, H.K., Collin, P., Kanemaki, M.T., Shah, J.V. and *Jallepalli, P.V. (2014) Nuclear pores protect genome integrity by assembling a premitotic and Mad1-dependent anaphase inhibitor. **Cell** 156, 1017-1031.
105. *Shiomi, Y., and *Nishitani, H. (2013) Alternative replication factor C protein, Elg1, maintains chromosome stability by regulating PCNA levels on chromatin **Genes Cells** 11, 946-959.
106. Nishiyama, A., Yamaguchi, L., Sharif, J., Johmura, Y., Kawamura, T., Nakanishi, K., Shimamura, S., Arita, K., Kodama, T., Ishikawa, F., Koseki, H., and *Nakanishi, M. (2013) Uhrf1-dependent ubiquitylation of histone H3 at lysine 23 couples maintenance DNA methylation and DNA replication. **Nature** 502, 249-253.
107. Kubota, T., Nishimura, K., Kanemaki, M.T., and *Donaldson, AD. (2013) The Elg1 replication factor C-like complex functions in PCNA unloading during DNA replication. **Mol. Cell** 50, 273-280.

108. Liu, N., Matsumoto, M., Kitagawa, K., Kotake, Y., Suzuki, S., Shirasawa, S., Nakayama, K.I., Nakanishi, M., Niida, H., and Kitagawa, M. (2012) Chk1 phosphorylates the tumour suppressor Mig-6, regulating the activation of EGF signalling. **EMBO J.** *31*, 2365-2377.
109. Shiomi, Y., Hayashi, A., Ishii, T., Shinmyozu, K., Nakayama, J.I., Sugasawa, K., and *Nishitani, H. (2012) Two different RFC proteins, Ctf18 and RFC1 separately control PCNA-CRL4Cdt2-mediated Cdt1 proteolysis during S phase and following UV-irradiation. **Mol. Cell. Biol.** *32*, 2279-2288.
110. Furuya, K., and *Niki, H. (2012) Hyphal differentiation induced via a DNA damage checkpoint-dependent pathway engaged in crosstalk with nutrient stress signaling in *Schizosaccharomyces japonicus*. **Curr. Genet.** *58*, 291-303.
111. Pozo, F.M., Oda, T., Sekimoto, T., Murakumo, Y., Masutani, C., Hanaoka, F., and *Yamashita, T. (2011) Molecular chaperone Hsp90 regulates REV1-mediated mutagenesis. **Mol. Cell. Biol.** *31*, 3396-3409.
112. Muraki, K., Nabetani, A., Nishiyama, A., and *Ishikawa, F. (2011). Essential roles of *Xenopus* TRF2 in telomere end protection and replication. **Genes Cells** *16*, 728-739.

【一般向けの講演などアウトリーチ活動】

1. 広島大学大学院理学研究科オープンセミナー「今、東日本でなにがおこっているか？」(井出班員) 平成 23 年 6 月 5 日 (広島市こども文化科学館)
2. 新学術領域研究主催市民講座「生き物は傷ついた DNA をどう扱うか？」(田中亀代次班員、河野班員) 平成 23 年 9 月 17 日 (京都大学東京オフィス)
3. 熊本大学女子中高校生の理系進路選択支援事業「立体構造の美しいタンパク質に魅せられて」(山縣班員) 平成 23 年 10 月 23 日 (熊本大学医学部保健学科)
4. 京都大学-放医研連携事業・研修会「放射線生物学へのイザナイ」(石合班員) 平成 23 年 12 月 26~28 日 (放射線医学総合研究所)
5. 群馬大学市民講座「まちなかキャンパス」シリーズとして:「がんとか齢のサイエンス」(山下班員) 平成 24 年 1 月 12 日 (前橋市民プラザ)
6. 大阪信愛女学院短大主催市民公開講座「遺伝子から見た生命と病気」(田中亀代次班員) 平成 25 年 3 月 16 日 (大阪信愛女学院短大)
7. 名古屋大学環境医学研究所市民公開講座「環境・遺伝子の変異・疾患」(益谷分担研究者) 平成 25 年 10 月 19 日 (名古屋大学環境医学研究所)
8. 遺伝研公開講演会「なぜ細胞は DNA を正確に複製できるのか？」(鐘巻班員) 平成 26 年 11 月 1 日 (国立遺伝研)

【本領域主催国際シンポジウム等】

1. 第 27 回 RBC-NIRS 国際シンポジウム
“Chromatin dynamics and epigenetic memory in DNA damage response”, Dec. 9-10, 2011, Co-op Inn Kyoto, Kyoto, Japan.
2. The 8th 3R Symposium Together with National Institute of Genetics 2012 Int. Symp.
“Molecular Mechanisms and Pathology of the 3R”, Nov. 25-28, 2012, Awaji Yumebutai Int. Conf. Center, Awaji, Japan
3. ゲノム普遍的制御国際シンポジウム
“Replication, repair and transcription; coupling mechanisms and chromatin dynamics for genome integrity”, Feb. 4-5, 2014, Kyoto University Clock Tower Centennial Hall, Kyoto, Japan.
4. 第 5 回日米 DNA 修復会議
“5th US-Japan DNA Repair Meeting”, Oct. 28-31, 2014, Grand XIV Naruto, Naruto, Tokushima, Japan.
5. The 9th 3R Symposium Together with National Institute of Genetics 2014 Int. Symp.
“3R and Beyond”, Nov. 17-21, 2014, Gotemba Kogen Hotel, Gotemba, Japan

7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2ページ程度）

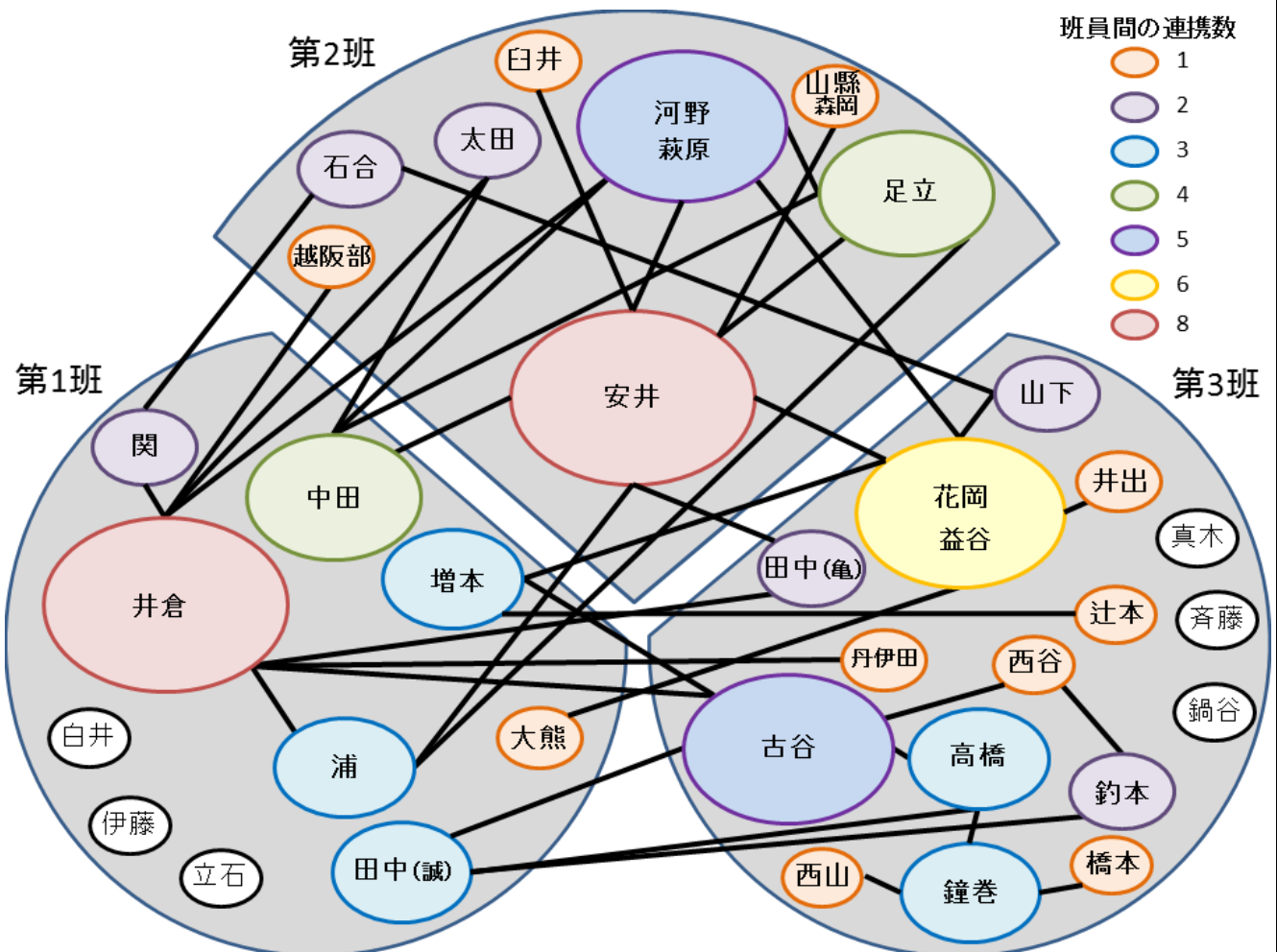
領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

本領域研究では、「A01.ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究」、「A02.クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響」、「A03.修復と転写、修復と複製のカップリング機構」という3つの研究課題を設け、それぞれに3名ずつ、コアとなる研究者を計画研究として配し、それぞれの課題に公募研究という形で、広く一般から応募してもらった。採択に当たっては、各項目に対する応募数は考慮せず、本領域全体として評価の高いものから順番に取って、当落線上の応募課題について、内容と項目間のバランスとに配慮して、決定した。結果的に2回の公募とも「A03」班に公募班員が多く、「A01」班、「A02」班が少ないという状態になってしまったが、これはそれぞれの課題の広がりの違いを反映しており、止むを得ない。

最初にも述べたように、これら3つの研究項目は、密接に関係しており、それぞれを個別に扱うことはしないで、いわば便宜上分けた感じである。したがって共同研究も自由に行い、個人個人が自由な発想で組んでもらった。下図に、班員間での連携状況を示す。この図で明らかのように、ほとんどの班員が何らかの形で領域内での共同研究を行っており、「新学術領域研究」という形が有効に働いていることがうかがえる。そしてどちらかと言うと、同じ研究項目内よりも異なる研究項目（班）のメンバーとの共同研究のほうが多い傾向にあり、得意分野がより異なる研究者間で共同研究が成立したというのは自然な流れと思われる。

公募研究が2年単位なので、本領域に1期しか参加出来なかった研究者は共同研究に結びつきにくい傾向もあるが、それは致し方のないところであろう。

いずれにしても5年間でこれだけ多くの共同研究が生まれたということは、こうしたグループ研究の重要性を如実に表していると感じる。



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

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。

計画班員および公募班員がそれぞれの必要に応じて研究費で購入した設備・装置は、当然ながら当該研究室で使用したいという希望があって購入したもので、一義的にはそれぞれの研究室で使用している。しかし同じ設備・装置を一時的に他の研究グループが使用したいと希望する場合もあり、そういうときには当該設備・装置が備わっている研究室と交渉するシステムを、本領域では構築した。具体的には必ずどの研究室にも備わっていると思われる設備・装置は除いて、それ以外の特殊性のあると思われるものについてのリストを京大・井倉班員のところに集約し、それを領域ホームページで班員が見られるようにした。新規に購入した設備・装置についても、適宜、HPに追加して、共同で使用できるように配慮した。

また研究期間の途中からではあったが、よい抗体の情報とか有効な siRNA の配列などの情報も共有することによって、お互いに研究の無駄を省けるような配慮をした。さらに共用性の高い精製タンパク質や抗体などを京大の井倉研究室に総括班の費用で購入・設置したフリーザーに保管し、要望に応じて配布するようにした。

・研究費の使用状況

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

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価 (円)	金額 (円)	設置(使用)研究機関
2 2	フローサイトメーター	ライフテクノロジーズ社 ・ Attune Acoustic Focusing Cytometer 444531	1 式	10,999,800	10,999,800	広島大学
	フローサイトメーター	日本ミリポア社・ NM-0500-4005JPK	1 式	8,050,000	8,050,000	国立がん研究センター研究所
	液体クロマトグラフィシステム	GE ヘルスケア社・ AKTA purifier 10 ベースシステム	1 式	6,247,500	6,247,500	熊本大学
	自動タンパク質精製システム	GE ヘルスケア社・ AKTA purifier UPC10	1 式	6,190,800	6,190,800	京都大学放射線生物研究センター
	ルミノ・イメージアナライザー	GE ヘルスケア社・ Image Quant LAS4000mini	1 式	4,635,750	4,635,750	東北大学→東北薬科大学
	高速冷却遠心機	ベックマン・コールター社・ Avanti HP-26XP	1 式	3,927,000	3,927,000	京都大学放射線生物研究センター
	化学発光検出装置	GE ヘルスケア社・ ImageQuantLAS4000minシステム	1 式	3,837,750	3,837,750	名古屋大学
	スタックブルインキュベーターシェイカー	ニューブランズウィックサイエンティフィック社・ 44R	1 式	3,444,000	3,444,000	熊本大学
	高機能高速冷却遠心機	ベックマン・コールター社・ Avanti HP-26XP	1 式	3,355,800	3,355,800	名古屋大学
	Ar 照射用レーザー管	405 nm レーザー管	1 式	1,252,650	1,252,650	東北大学加齢医学研究所
2 3	タンパク質精製装置	GE ヘルスケア社・ AKTA purifier 10p lus	1 式	6,991,950	6,991,950	東北大学→東北薬科大学
	多機能超遠心機	ベックマン・コールター社・ OPTIMA L-90K	1 式	5,943,000	5,943,000	広島大学
	蛍光顕微鏡	キーエンス社・ HS オールインワン型 BZ-900	1 式	4,971,225	4,971,225	京都大学放射線生物研究センター
	軟 X 線照射装置	オーミック社・ OM-303	1 式	3,570,000	3,570,000	広島大学
2 4	高速原子間力顕微鏡システム	生体分子計測研究所・ NEX-07S	1 式	11,550,000	11,550,000	広島大学
	紫外線照射機能付クリオスタット	ライカ・バイオンステルズ・ヌスロフ社・ CM1950 OUVVM	1 式	6,221,250	6,221,250	東北薬科大学
	蛍光顕微鏡	キーエンス社・ HS オールインワン型	1 式	4,843,650	4,843,650	東北薬科大学
	微量分析用動的散乱測定器	Wyatt Technology 社	1 式	4,725,000	4,725,000	熊本大学
2 5	AFM 用 Z 軸ピエゾユニット	生体分子計測研究所・ NEX-07S 専用	1 式	4,313,400	4,313,400	広島大学
2 6	Picoruptor	Diagonode 社・ 316-81311	1 式	4,600,800	4,600,800	東北薬科大学

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

【平成 22 年度】		
・旅費		
ゴードン会議等参加、発表	983 千円 (田中・計画研究)	研究成果の公表
ゴードン会議参加、発表	487 千円 (青田 (浦)・計画研究)	研究成果の公表
ゴードン会議参加、発表	266 千円 (山縣・計画研究)	研究成果の公表
ARRS Meeting 参加、発表	265 千円 (井倉・計画研究)	研究成果の公表
Dr. Vermeulen 招聘 (3R シンポ)	229 千円 (田中・計画研究)	情報交換
・人件費・謝金		
博士研究員・人件費	5,751 千円 (花岡・計画研究)	領域推進のため
技術補佐員・人件費	2,000 千円 (安井・計画研究)	領域推進のため
技術補佐員・人件費	1,326 千円 (関・計画研究)	領域推進のため
技術補佐員・人件費	842 千円 (益谷・分担研究)	領域推進のため
非常勤職員・人件費	224 千円 (井倉・計画研究)	領域推進のため
・その他		
マウス受託飼育費	4,557 千円 (青田 (浦)・計画研究)	領域推進のため
DNA マイクロアレイ解析	1,491 千円 (田中・計画研究)	領域推進のため
細胞樹立・タンパク質複合体精製	368 千円 (田中・計画研究)	領域推進のため
タンパク質同定サービス	210 千円 (田中・計画研究)	領域推進のため
論文投稿料	190 千円 (田中・計画研究)	研究成果の公表
【平成 23 年度】		
・旅費		
Dr. Yang, Dr. Tyler 招聘 (RBC-NIRS 国際シンポ)	1,544 千円 (総括班)	情報交換
Stanford 大等訪問	941 千円 (田中・計画研究)	共同研究の推進
日英細胞周期 WS 参加、発表	649 千円 (花岡・計画研究)	成果公表、情報交換
Erasmus 大等訪問	630 千円 (田中・計画研究)	共同研究の推進
IUCr2011-XXII 参加、発表	461 千円 (山縣・計画研究)	研究成果の公表
・人件費・謝金		
技術補佐員、博士研究員人件費	13,773 千円 (安井・計画研究)	領域推進のため
博士研究員・人件費	5,744 千円 (花岡・計画研究)	領域推進のため
博士研究員・人件費	5,167 千円 (山縣・計画研究)	領域推進のため
研究補助員・人件費	4,678 千円 (青田 (浦)・計画研究)	領域推進のため
ポスドク等・人件費	2,465 千円 (田中・計画研究)	領域推進のため
・その他		
第 2 回領域会議・会場費等	665 千円 (総括班)	領域推進のため
マウス受託飼育費	474 千円 (青田 (浦)・計画研究)	領域推進のため
DNA マイクロアレイ解析	410 千円 (田中・計画研究)	領域推進のため
染色体ワークショップ・会場費	398 千円 (総括班)	共催援助のため
レンタルサーバー利用料	137 千円 (総括班)	領域推進のため
【平成 24 年度】		
・旅費		
Dr. Scharer 等招聘 (RBC-NIRS 国際シンポ)	1,437 千円 (総括班)	情報交換
ゴードン会議等参加、発表	983 千円 (田中・計画研究)	研究成果の公表
日米 DNA 修復会議参加、発表	544 千円 (山縣・計画研究)	研究成果の公表
日米がん会議参加、発表	294 千円 (河野・計画研究)	研究成果の公表
日米 DNA 修復会議参加、発表	231 千円 (井倉・計画研究)	研究成果の公表
・人件費・謝金		
技術補佐員、博士研究員人件費	12,687 千円 (安井・計画研究)	領域推進のため
博士研究員・人件費	5,790 千円 (益谷・分担研究)	領域推進のため
研究補助員・人件費	4,800 千円 (青田 (浦)・計画研究)	領域推進のため
非常勤研究員・人件費	4,442 千円 (井倉・計画研究)	領域推進のため
研究補助員・人件費	2,521 千円 (花岡・計画研究)	領域推進のため
・その他		
マウス受託飼育費	1,800 千円 (青田 (浦)・計画研究)	領域推進のため
RNA-seq 受託解析	1,365 千円 (青田 (浦)・計画研究)	領域推進のため
第 3 回領域会議・会場費等	511 千円 (総括班)	領域推進のため
タンパク質同定サービス	473 千円 (田中・計画研究)	領域推進のため
染色体ワークショップ・会場費等	398 千円 (総括班)	共催援助のため

【平成 25 年度】

・旅費

Dr. Misteli 等招聘（新学術国際シンポ）	3,146 千円（総括班）	情報交換
ゴードン会議参加・発表	794 千円（田中・計画研究）	研究成果の公表
英国研究機関訪問・発表、研究打ち合わせ	628 千円（関・計画研究）	研究成果の公表
Dr. Egly 招聘（新学術国際シンポ）	578 千円（田中・計画研究）	情報交換
第 4 回領域会議旅費	446 千円（総括班）	領域推進のため

・人件費・謝金

技術補佐員、博士研究員人件費	15,094 千円（安井・計画研究）	領域推進のため
博士研究員等・人件費	11,207 千円（花岡・計画研究）	領域推進のため
博士研究員等・人件費	4,800 千円（山縣・計画研究）	領域推進のため
博士研究員・人件費	3,910 千円（益谷・分担研究）	領域推進のため
非常勤職員・人件費	3,508 千円（花岡・計画研究）	領域推進のため

・その他

マウス受託飼育費	6,600 千円（青田（浦）・計画研究）	領域推進のため
国際シンポジウム・会場費、要旨集	1,728 千円（総括班）	領域推進のため
DNA マイクロアレイ解析	755 千円（田中・計画研究）	領域推進のため
DNA アナライザスペクトル解析	294 千円（田中・計画研究）	領域推進のため
第 4 回領域会議・会場費等	247 千円（総括班）	領域推進のため

【平成 26 年度】

・旅費

日米 DNA 修復会議旅費	918 千円（総括班）	領域推進のため
Erasmus 大学等訪問・発表、研究打ち合わせ	863 千円（田中・計画研究）	情報交換
ゴードン会議参加・発表（花岡）	780 千円（総括班）	研究成果の公表・情報交換
Int. WS Rad. Damage 参加、発表	570 千円（井出・計画研究）	研究成果の公表
IUCr2014-XXIII 参加、発表	479 千円（山縣・計画研究）	研究成果の公表

・人件費・謝金

技術補佐員、博士研究員人件費	14,431 千円（安井・計画研究）	領域推進のため
博士研究員等・人件費	10,253 千円（花岡・計画研究）	領域推進のため
特任助教・人件費	8,776 千円（田中・計画研究）	領域推進のため
博士研究員等・人件費	6,471 千円（山縣・計画研究）	領域推進のため
博士研究員・人件費	4,503 千円（井出・計画研究）	領域推進のため

・その他

染色体 WS/核ダイナミクス研究会・会場費等	500 千円（総括班）	共催援助のため
AFM スキャナー修理	481 千円（井出・計画研究）	領域推進のため
3R/遺伝研シンポジウム（パネルレンタル）	450 千円（総括班）	共催援助のため
日米 DNA 修復会議・会場費	387 千円（総括班）	領域推進のため
レンタルサーバー利用料	84 千円（総括班）	領域推進のため

（3）最終年度（平成 26 年度）の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

総括班の費用の一部を平成 27 年度に繰越し、成果取りまとめのための公開シンポジウムの開催費と成果報告書の作成費用に用いる予定である。

9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1ページ程度）

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

【A01.ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究】

関班員の研究成果（「6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況」の refs. 11, 13、以下同様）は、「ヌクレオソーム表面による核内反応の制御」に関する最先端の研究で、関連分野に与えるインパクトが大きい。同じく関班員の ref. 6 で提示された「複合体に共通のサブユニットの機能を複合体ごとに区別して解析する方法論（FALC 法）は、生体内に存在する多くの複合体に適用可能で、波及効果が大きい。青田（浦）班員は、再構成クロマチン系を駆使してクロマチンの高次構造がクロマチン修飾及び DNA 組換え反応に重要であることを実験的に示し、関連分野に対して貢献した（ref. 7）。井倉班員の研究成果（非公開部分の ref. 1）は、ヒストンのアセチル化によるクロマチンの構造変換機構を *in vivo* で示した最初の報告となるはずで、DNA 修復のみならず、転写、複製、組換えにおいても同様の機構が存在すると予想出来る。具体的には DNA 損傷領域のヒストンのアセチル化が二つのクロマチン構造変換因子の相互制御によるポジティブフィードバックループを形成し、その制御機構がクロマチンを弛緩させる、というものである。中田班員の成果（ref. 23）は、これまで重要性が指摘されながら、具体的なメカニズムが不明であった DNA2 本鎖切断修復における損傷シグナリングとユビキチン化の関連性を明らかにした点で、本分野に大きなインパクトを与えた。

【A02.クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響】

安井班員は、ARID1A を初めとする多くのクロマチンリモデリング因子の発現が多くのがん細胞で欠損していることを示し、それらが X 線やシスプラチンの抵抗性に必要であることも示したことから、がん治療への波及効果がある（ref. 31）。さらに DNA2 本鎖切断によって起きる転写サイレンシングの分子機構を明らかにし、それが Ku タンパク質の集積をもたらして、細胞死の阻止に重要であることを示したことは、転写と共役した修復（TCR）の分野に大きな進歩をもたらした（ref. 30）。河野班員は、クロマチン制御遺伝子 BRG1 失活がんの合成致死治療標的として BRM-ATPase タンパク質を同定し、引き続き 3 つのグループが同じ発表を行ったことから、クロマチン制御タンパク質を標的としたがん治療の概念が広まった（ref. 35, 43）。山縣班員の研究成果、「低温トラップ時分割 X 線結晶構造解析による DNA ポリメラーゼ・イータの時間軸を含めた 4 次元構造の決定」（ref. 48）は、DNA ポリメラーゼのみならず多くの酵素の反応機構研究へ多大な波及効果を与えることは疑いない。

【A03.修復と転写、修復と複製のカップリング機構】

花岡班員の DNA ポリメラーゼ・イータの構造と機能に関する研究の成果（refs. 75, 79, 91）は、本酵素の損傷乗り越え合成（TLS）の分子メカニズムを詳細に解明するとともに、この非常に重要な酵素が TLS 以外にも体細胞超突然変異に関与することをよく説明し、またこの酵素の阻害剤がシスプラチンとの併用によって制がん効果を示す可能性を示した。益谷・分担研究者の成果（refs. 64, 78）は、新たなポリユビキチン化形成機構やマルチプルなモノユビキチン化といった新たな視点を与えるもので、抗がん剤の新たな標的分子の開発に繋がるものである。田中班員による UVSSA の同定と機能解析（ref. 82）によって、TC-NER 機構がこれまで予想されていたよりもはるかに複雑な機構であることを示唆した。また TC-NER には関与する因子の安定性という視点が必要であること、さらに PolIII や CSB のユビキチン化や SUMO 化も TC-NER に必要であることを明らかにし、ここでも翻訳後修飾ネットワーク機構の解明の重要性を示す結果となった。井出班員の DPC に関する研究（refs. 68, 77, 84）は、DPC の重要性を再認識させることになり、他の研究グループによる DPC に働く酵母プロテアーゼの発見や複製と DPC 分解のカップリングの報告など、関連分野への波及効果が広がりつつある。西山班員の DNA 維持メチル化とダイレクトにリンクする新規のヒストン修飾による新たな DNA メチル化制御のモデルの提唱（ref. 106）は、近年のがん細胞における DNA のメチル化異常の報告及び DNA メチル化酵素阻害剤の創薬ターゲットとしての注目度をさらに強める大きな成果である。

10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1 ページ程度）

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

領域会議や本領域主催あるいは共催のシンポジウムやワークショップに出来るだけ多く、若手の研究者に参加・発表の機会を与え、トップレベルの研究者に触れるよう encourage した。下に彼ら及び中堅研究者の動向の代表例を示す（班員については、本領域参加時からの動向）。

関班員：東北大・准教授→東北薬科大・教授

青田（浦）班員：大阪大・助教→大阪大・准教授→千葉大・教授

益谷・分担研究者：大阪大・准教授→名古屋大・教授

宇井彩子（安井研究室）：東北大・博士研究員→聖マリアンヌ大・特任講師

諏訪喜昭（山縣研究室）：熊本大・博士研究員→ネブラスカ大・ポスドク→関西学院大・助教

金尾梨絵（花岡研究室）：学習院大・博士研究員→名古屋大・助教

櫻井靖高（花岡研究室）：大阪大・博士後期課程→北里大・助教

柏葉脩一郎（益谷研究室）：名古屋大・博士研究員→東京理科大・助教

新美敦子（益谷研究室）：名古屋大・博士研究員→群馬大・助教

中林悠（関研究室）：東北大・D1→東北薬科大・助教（「若手 B」採択）

Mahmoud I. Shoulkamy（井出研究室）：広島大・博士後期課程→広島大・特任助教

池鯉鮒麻美（山縣研究室）：熊本大・博士研究員→オックスフォード大・ポスドク→熊本大・産学連携研究員

田上友貴（立石研究室）：熊本大・M2→熊本大・学振 DC1（博士後期課程）

河添好孝（高橋研究室）：大阪大・M2→大阪大・学振 DC1（博士後期課程）

照井利輝（高橋研究室）：大阪大・M1→大阪大・学振 DC1（博士後期課程）

11. 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。

関口睦夫先生（福岡歯科大学・教授）

本研究の領域は、DNA 修復とクロマチン構造の関連を明らかにし、その上にたつて DNA の酵素や転写と修復の共役や制御機構を把握することによってゲノム安定性の意義を明確にすることを目的として設定された。そのため、DNA 修復について活発に研究している研究者群と、クロマチンの動的構造について研究している研究者群がチームを組んで研究してきた。私は総括班に属する評価担当者として、毎年行われた全研究班員による研究発表会にほぼ毎回出席し、さらに総括班の会議に連なることによって、その活動の過程をよく知ることができた。今回作成された事後評価報告書を読んで、研究の進捗状況と成果についてさらに理解を深めることができた。

その結果を概括して私自身が感じたことを述べると、この重要であるが複雑な細胞内の過程について、それなりに切り込み、当初の目的をある程度まで達成できたと評価したい。しかしこの問題は DNA の遺伝情報がいかにして正確に保持され、的確にとり出されるかという生命機能の本質に関わるものであり、その全面的理解にはさらに研究機関と研究者がしのぎをけずって明らかにしようとしているゲノム安定性の維持機構の本質をなすものであり、今回の領域研究だけでは達成できるものではない。一層深いところまで掘り進む必要がある。

今後本研究を土台にしてさらに領域研究を進める上で役立つと私が感じたことを以下に述べる。

(1) 本研究領域は (A01) ヒストン修飾によるクロマチンリモデリングの研究、(A02) クロマチンリモデリングの作用機構と疾患への影響、(A03) 修復と転写、修復と複製のカップリング機構の3つのグループで計画研究が行われ、それに公募研究の班員が配置される形で研究が進められてきた。しかし、実際のところ3つのグループがそれぞれ特徴のある研究を進めて突破口を開いたかという若干課題が残る。固定化されたグループでなく、必要に応じて小グループをつくって機動的に進める方が効果的ではなかったかという気がする。計画段階で戦略的に目標を見直して、特定の目標を持つ小グループを編成して進める方がいいような気がする。これは本領域だけの問題ではないので、研究体制をつくる立場からも考慮して欲しいと思う。

(2) 新学術領域を開くことを目標とする「研究領域提案型」の科研費は望ましいが、そのためには異なる分野の研究者が複数で研究体制をつくることも有効ではないかと思う。全体的な統括責任者は必要であるが、新しい分野をつくっていくという趣旨からは考慮すべき問題ではないかと思う。

広瀬 進先生（国立遺伝学研究所・名誉教授）

本研究領域は、これまで裸の DNA を対象として進められてきた DNA 修復研究にクロマチン構造という視点を導入し、新しい展開を目指している。研究組織は、国際的に DNA 修復研究を先導してきたベテランに活みなぎる若手を加えた計画研究とそれを補う幅広い人材を擁する公募研究からなり、全体としてバランスのとれた構成となっている。

主要な成果としては、DNA 修復に伴う TIP60 ヒストンアセチル化酵素複合体によるヒストン H2AX 交換反応をヒストンシャペロン FACT が促進する事(井倉)、紫外線損傷刺激に伴う遺伝子の転写活性化におけるヒストン H3K36 メチル化酵素 Whsc1 の役割解明(青田)、DNA 二重鎖切断時に ATM がポリコーム複合体をリクルートして転写を抑制する機構の解明(安井)、肺がんにおける SWI/SNF クロマチンリモデリング因子遺伝子群の高頻度な失活変異の同定(河野)、X 線結晶構造解析による DNA ポリメラーゼ・イータの4次元構造解明(山懸)、転写共役ヌクレオチド除去修復の新規因子 UVSSA の作用機構解明(田中)、X 線結晶構造解析による DNA ポリメラーゼ・イータの損傷乗り換え複製の分子基盤解明(花岡)などの重要な発見が挙げられる。こうしてクロマチン構造が DNA 修復に果たす役割の解明が進み、本領域の主要目標が達成された。

反省点は、精製タンパク質群からなる紫外線傷害除去修復の *in vitro* 再構成系を擁しながら、再構成クロマチンを用いた *in vitro* 修復反応の解析に大きな進展が見られなかったことであり、今後の努力に期待したい。

藤井義明先生（東北大学・名誉教授）

ゲノムの安定性を維持するメカニズムの研究は生命科学の重要な研究領域の一つであり、ここで得られた成果は他の研究領域にも大きな波及効果を及ぼすと考えられる。また、これまでのこの研究分野における日本の研究レベルは国際的に高く評価されており、多くの貢献が為されている。研究班は各テーマ毎に実績のある評価の高い計画研究員が核になっており、2年毎の公募によって選ばれた公募研究員と一緒に構成されている。

不幸なことに、この領域研究がスタートして1年目に東日本大震災が襲い、複数の計画班員の研究室が大きな被害を被ったが、研究資材や研究費などの点で被害の影響を最小限に食い止めることができたのはよく配慮された研究班の組織によるものであった。行き届いた研究組織の研究成果は、トップジャーナル（Nature, Cell, Nat Med, Nat Genet, Mol Cell）にかなりの数の論文が発表されているし、その他の多くの論文が世界的に定評のあるジャーナル（PNAS, Gene Dev, Cancer Res, J Biol Chem, Mol Cell Biol, EMBO J など）に掲載されていることや、これらの論文の多くが班員の共同研究によることから評価される。このような研究成果は計画された研究班の所期の目的の大半が達成されたことを示していると考えられるが、望むらくは予想もされなかった画期的な成果が得られていればもっと良かったかもしれない。

何れにしても波及効果の高い研究分野における、この高い研究レベルを維持するために今後どうすべきかを考える必要がある。本研究班は若手の育成にも意を注いでおり、研究班主催あるいは共催のシンポジウムやワークショップを多く開いて若手の研究者に発表や活躍の機会を与えている。5年間に3名がPIにプロモーションされているが、研究のレベルの高さから見て今後さらに増えることを期待したい。

山本正幸先生（基礎生物学研究所・所長）

本新学術領域研究の目標は、ゲノムの修復と転写、複製のカップリング機構と損傷応答機構の解明から出発して、クロマチンリモデリングの普遍的な性質を解明し、新しいパラダイムを創出することとされている。5カ年の研究を概観すると、ベテラン研究者を中心に分野をリードする研究成果を手堅く挙げており、またゲノムのもつ基本的な分子機構から臨床医学に繋がる領域にまで切り込んできていることは高く評価される。一方、計画研究代表者としてこの新学術研究領域に参加し、研究期間内に次世代を担う研究者への成長が期待された中堅研究者が案外と伸び悩んでいるように見える点は、その理由の分析が必要かも知れない。領域代表者は、東日本大震災のもたらした研究へのマイナスに言及しており、そのこと自体は事実であり強い同情に値するが、一方で領域代表者自身を含めて可塑性の高いベテラン研究者はそのマイナスを十分乗り越えている。2カ年のみ参加の公募班員にまで多くを期待するのは酷というものであろうが、本新学術領域研究の背景となっているゲノム修復やクロマチン構造解析は長い研究の歴史と多くの知見の積み重ねに裏打ちされており、その中からどのように抜け出して新学術領域と呼べるものを構成するか、というところに中堅、若手研究者が直面した基本的な難しさがあったのかも知れない。個別研究としては見るべき成果が挙がっている研究課題も多いが、総体としては、中間評価で付された「一方で、本新学術領域研究開始前の個々の研究者の枠内での研究推進に留まっているのではないかとする意見もあり、今後領域全体としての方向性を明確にし、有機的連携を深めることが期待される。」というコメントが、残念ながら十分には克服できなかったような印象をもつ。国際的な舞台で多くの経験を積んできた領域代表者のマネジメント努力にも拘わらず克服できなかった問題点については、ぜひ今後に関わる検討と総括をお願いしたい。