

領域略称名：RNA タクソノミ  
領域番号：3604

令和元年度科学研究費助成事業  
「新学術領域研究（研究領域提案型）」  
に係る事後評価報告書

「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

令和元年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

1. 研究領域の目的及び概要	7
2. 研究領域の設定目的の達成度	9
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	12
4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況	13
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	15
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	23
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）	25
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	29
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	30
11. 総括班評価者による評価	31

**研究組織** (総：総括班, 支：国際活動支援班, 計：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究, 公：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	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	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	7
A01 計	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	12
A01 計	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・大学院工学系研究科・ 教授	16
A01 計	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・大学院理学系研究科・ 教授	6
A02 計	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	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・バイオシグナル総合 研究センター・准教授	6
A03 計	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・定量生命科学研究所・ 教授	6
A03 計	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・大学院医歯 学総合研究科・教授	12
統括・支援・計画研究 計 9 件					
A01 公	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	大阪大学・理学研究科・准教授	1

A01 公	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・大学院理学系研究科・ 助教	1
A01 公	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	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・講師	1
A01 公	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	株式会社国際電気通信基礎技術研究所・佐藤匠徳特別研究所・主任研究員	2
A01 公	17H05592 CRISPR-Cas9 の作動機構の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	西増 弘志	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授	1
A01 公	17H05593 mRNA 制御因子としての tRNA ネオタクソノミ	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	三嶋 雄一郎	京都産業大学・総合生命科学部・准教授	1
A01 公	17H05596 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 29 年度 ～ 平成 30 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	17H05603 非コード小分子 RNA によるヘテロクロマチン形成メカニズム	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	岩崎 由香	慶應義塾大学・医学部・講師	1
A01 公	17H05606 ヘテロクロマチン形成における Xist RNA の作動エレメントの役割	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	佐渡 敬	近畿大学・農学部・教授	1
A01 公	17H05607 ヒトにおける microRNA マシナリーによる翻訳抑制の作動原理の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	藤原 俊伸	近畿大学・薬学部・教授	7
A02 公	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	5

A02 公	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	3
A02 公	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	5
A02 公	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	5
A02 公	15H01472 ミジンコの性決定を制御する長鎖ノンコーディング RNA の機能解析	平成 27 年度 ～ 平成 28 年度	加藤 泰彦	大阪大学・工学研究科・助教	7
A02 公	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	3
A02 公	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・サイエンス アンド テクノロジーグループ・サイエンス テクノロジー アソシエート	1
A02 公	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・生命機能研究科・准教授	1
A02 公	17H05594 長鎖ノンコーディング RNA による代謝制御を介した炎症制御機構の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	藤生 克仁	東京大学・医学系附属病院・特任准教授	1
A02 公	17H05608 lincRNA/miR2118/phasiRNA の植物生殖システム	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	小宮 怜奈	沖縄科学技術大学院大学・サイエンステクノロジーグループ・サイエンス・テクノロジー アソシエート	4
A02 公	17H05597 X 染色体不活性化を制御する新規 non-codingRNA の解析	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	小林 慎	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員	3

A02 公	17H05598 オーファン CLIPed-ncRNA 作動エレメントの神経系に おける意義の解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	矢野 真人	新潟大学・医歯学系・准教授	3
A02 公	17H05599 心肥大・心不全に関わる長 鎖非コード RNA の機能解 析	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	尾野 亘	京都大学・医学研究科・准教授	6
A02 公	17H05602 ミジンコの性決定を制御す る長鎖ノンコーディング RNA の機能解析	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	加藤 泰彦	大阪大学・工学研究科・助教	7
A02 公	17H05609 紡錘体形成・染色体分配を 制御する非コード RNA の 作動メカニズムの解明	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	北川 大樹	東京大学・大学院薬学系研究科 (薬学部)・教授	5
A03 公	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・大学院新領域創成科 学研究科・准教授	1
A03 公	17H05601 ncRNA 構造ライブラリを 基盤とする大規模作動エレ メント解析技術の開発	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	齊藤 博英	京都大学・iPS 細胞研究所・教授	2
A03 公	17H05605 lncRNA-mRNA の相互作用 ネットワークに基づく lncRNA の機能推定	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	福永 津嵩	東京大学・大学院情報理工学系 研究科・助教	3
A03 公	17H05610 質量分析を用いた ncRNA 結合タンパク質同定技術の 高度化とその利用	平成 29 年度 ～ 平成 30 年度	足達 俊吾	国立研究開発法人産業技術総合 研究所・生命工学領域・研究員	1
公募研究 計 30 件					

## 1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ以内）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募研究領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を発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。

本研究領域の応募時(平成 25 年)における研究目的および全体構想は、以下のとおりであった。

### 【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。

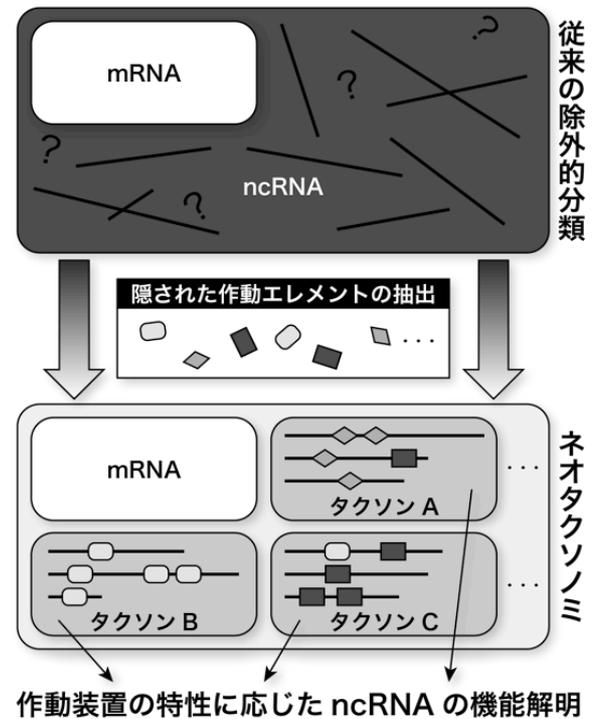


図 1 : ncRNA ネオタクソノミの概念図

### 【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 サイレンシング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た新しい分類体系「ncRNA ネオタクソノミ」を確立

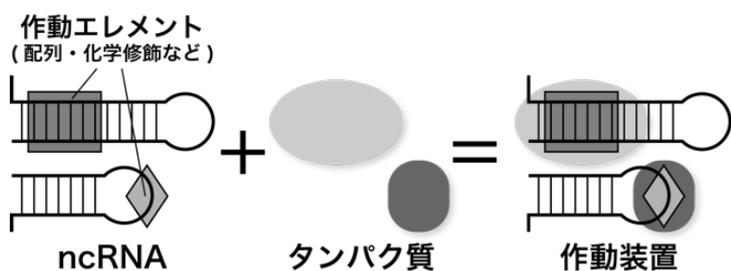


図 2：作動エレメントと作動装置

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。

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進めてゆく。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. 研究領域の設定目的の達成度（3 ページ以内）

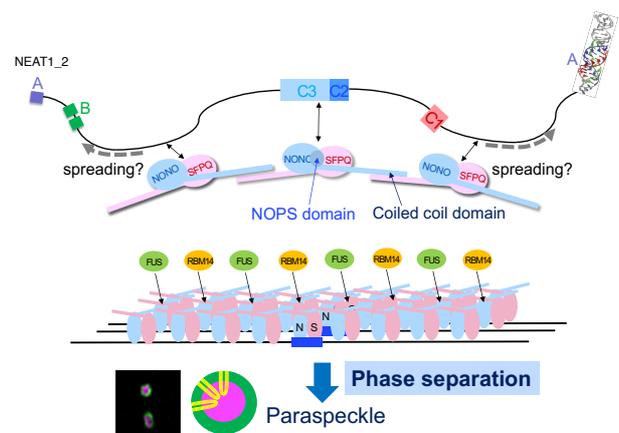
研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしての達成度合いについて、具体的に記述してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

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)」を設置した。以下に研究項目ごとの研究成果を説明する。

### 【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 のタクソン分けを目指した。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た。

細胞内構造体の骨格として働く“architectural RNA (arcRNA)”を本領域発のタクソンとして確立することを目標に、arcRNA 機能を担う作動エレメントの同定を目指した。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ゲノム編集による網羅的変異解析によって同定し、ncRNA が複数の作動エレメントからなるモジュラー構造を持つことを明らかにした。さらに作動エレメントには、プリオン様タンパク質が集約され、液相分離でヒドロゲル凝集が誘発されることが示され、arcRNA 機能の本質は液相分離誘導にあることを明らかにした。こうして、本領域の基盤コンセプトである ncRNA 配列上の作動エレメントと ncRNA 機能の紐付けに成功した (Yamazaki et al. *Mol Cell* 2018) (右図)。



NEAT1 arcRNA の作動エレメント (A~C) に基づいたパラスペックル構造形成モデル

arcRNA タクソンの確立には、類似機能をもつ arcRNA 分子種をさらに同定し、arcRNA 機能の一般性を示す必要がある。そのために、新規 arcRNA とそれらの作動装置を、独自の難溶性 RNA-seq 法と RNase 感受性スクリーニングで探索した結果、多数の新規候補を同定することに成功した (Chujo et al. *EMBO J* 2017, Mannen et al. *J Cell Biol* 2016)。これによって、ゲノムから多数の arcRNA が産生され、その機能に一般性があることを示された。arcRNA については、目標にしていた作動エレメントによる ncRNA 機能理解、類似機能を持つ ncRNA 群の同定、また A02 との連携による生理機能理解が進み、独立の ncRNA タクソンとして提唱するに至り、すでに国際的に広く受け入れられている。

RNA 化学修飾の解析は、様々な ncRNA 分子種の化学修飾の同定、その生合成機構と制御機構の解明、ncRNA 機能への影響についての研究が世界を牽引する形で展開された。特に 40 年来不明だった ncRNA と mRNA 共通の作動エレメントであるキャップ構造のメチル化酵素(CAPAM)を世界に先駆けて同定し、その構造と機能を明らかにした(Akichika et al. *Science* 2019)。またクラシカルな ncRNA である rRNA や tRNA に存在する RNA 修飾の生合成や機能についての膨大な知見を獲得し、予想外の基質による ac4C 修飾化学修飾の生合成経路を同定、また空気中の炭酸ガス濃度のセンサーとしての t6A 修飾機構を発見し、環境に応答した化学修飾を介した ncRNA 機能調節の概念を提唱した (Lin et al. *Nat Commun* 2018)。またリボソーム会合過程において、2'-O-メチル化された部位が、会合を規定する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 (Yoshida et al. *PNAS* 2015)。こうした成果によって、化学修飾が ncRNA 機能を決定する重要な作動エレメントとして機能し、タクソノミの指標としての化学修飾による ncRNA 機能制御に関するベンチマークとなる重要知見が多数獲得することができた。

RNA の細胞内局在を指標とした研究では、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、Yb タンパク質が認識する 100 塩基の作動エレメントの同定に成功した (Ishizu et al. *Cell Rep* 2015)。Yb が局在する細胞内構造体 Yb ボディにおける piRNA 生合成過程を解明し、Yb による液相分離の重要性が明らかになった (Hirakata et al. *EMBO Rep* 2019, Ishizu et al. *Cell Rep* 2019)。こうした成果から、この作動エレメントを指標に piRNA 前駆体タクソンに属する RNA を探索する道筋が明示された。piRNA 複合体については、核内でのリンカーヒストンの位置情報の規定による新たなエピゲノム制御モデルを提唱し、世界的に研究が進んでいる エピゲノム制御 ncRNA の新たな作動機構として注目を集めた (Iwasaki et al. *Mol Cell* 2016)。

RNP 複合体の構造解析を通して、ncRNA 作動装置の詳細な作用機構の理解が進んだ。特にゲノム編集装置である CRISPR/Cas 複合体の構造解析が様々な世界を先導する形で行われ、基質認識から切断に至る各ステップの分子機構が解明された。また様々なバクテリア種の CRISPR/Cas 複合体の構造解析からその進化の道筋を示すことができた (Nishimasu et al. *Science* 2018, *Cell* 2015; Hirano et al. *Mol Cell* 2016, *Cell* 2016; Yamano et al. *Cell* 2016)。また Let7 前駆体のウリジル化酵素や U6 snRNA メチル化酵素の構造解析によって、ncRNA 作動装置形成の詳細な分子機構解明に成功した (Yamashita et al. *Nat Commun* 2017, 2019)。

以上の通り、ncRNA ネオタクソノミの指標となる作動エレメントの解析は、配列・構造、化学修飾、細胞内局在の全ての側面から大きな進展が見られ、当初想定された目的以上の成果が得られた。

### 【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。

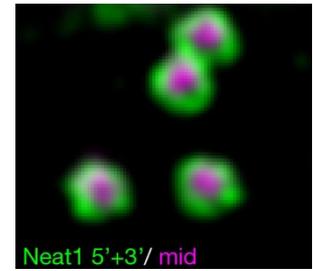
マウスを用いた解析では、Neat1 arcRNA の個体レベルでの機能解明に関して大きな進展が見られた。まず、*Neat1* のノックアウトマウスの約半数において妊娠黄体形成不全により血中のプロゲステロン濃度の低下が見られ、環境依存的に妊孕性が著しく低下することが明らかとなった (Nakagawa et al. *Development* 2014)。また、国際共同研究により、*Neat1* が異なる発ガン誘導モデルにおいて、ガン細胞の悪性を促進、あるいは抑制的に働くことが明らかとなった (Adriaens et al. *Nat Med* 2016, Mello et al. *Genes Dev* 2017)。これによって、Neat1 が形成するパラスペックルは、細胞が置かれたコンテキスト依存的に、異なる機能を発揮することが分かった。また、同じくマウス個体を用いた国際共同研究により、*Malat1* ncRNA が、細胞モデルとは異なり、乳ガンモデルにおいて肺への転移を抑えていることが明らかとなり、個体を用いた解析の重要性が示された (Kim et al. *Nat Genet* 2018)。

また、新たな ncRNA タクソンの存在を示唆する新規 ncRNA の発見も相次いだ。ミジンコにおける性決定は、転写因子 *Dsx1* によって制御されているが、*Dsx1* の 5' UTR 領域から転写される *DAPLAR* によって *Dsx1* の発現が制御されていることが明らかとなった (Sudo et al. *Curr Biol* 2018)。*DAPLAR* は特徴的な 3' プロセッシングを受け、翻訳制御因子と結合することで標的遺伝子の翻訳を制御する、全く新しいタイプの lncRNA であった。また、大腸ガン細胞で高発現している *UPAT* が、エピゲノム制御因子 UHRF1 のユビキチン化による分解を阻害することで腫瘍形成能を維持していることも明らかとなった (Taniue et al. *PNAS* 2016)。これらの研究により、標的タンパク質の発現量を翻訳レベルあるいは翻訳後レベルで制御するという、新たな lncRNA の作用点が明らかとなった。

*Xist* による X 染色体の不活性化は ncRNA による生体制御の代表的なモデルシステムであるが、その作用機序の理解に関しても新たな進展が見られた。*hnRNPU* は *Xist* の染色体局在を制御する RNA 結合蛋白質であるが、*hnRNPU* 非依存的に *Xist* が不活性化 X 染色体に局在する細胞があるという反論がなされていた。この謎に関し、*hnRNPU* のファミリー分子によって冗長的に染色体局在が制御されていること、その際に C 末端にある RGG ドメインが関与していることが明らかとなった (Sakaguchi et al. *Dev Cell* 2016)。また、メス特異的に X 染色体から発現する新規 lncRNA の欠損によって、小眼球症に類似した表現型が現れることも明らかとなった (Hosoi et al. *Nat. Comm* 2018)。

その他、ncRNA が形成する構造体の微細内部構造を超解像顕微鏡を用いて詳細に解析する手法を

最適化し、*Neat1* が骨格となるパラスペックルが、特徴的な Core-Shell 構造を持つことを明らかにした(West et al. *J Cell Biol* 2016) (右図)。この手法は *Neat1* の作動エレメント同定に関する領域内共同研究を進める上で非常に重要な技術基盤となった。また、ncRNA としてアノテーションされていたもの実はペプチドに翻訳して機能している Pri が、エクジソンによる発生のタイミングを制御していることも明らかとなった(Chanut-Delalande et al. *Nat Cell Biol* 2014, *Nat Commun* 2018)。



超解像顕微鏡によるパラスペックル観察像

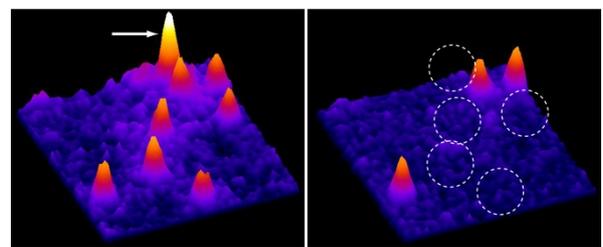
以上の通り、ncRNA ネオタクソノミの実現に向けた ncRNA の個体レベルで生理機能解析は、様々な新たな知見や、新しいタクソン確立のシーズとなる知見が多く得られ、当初想定された目的以上の成果が得られた。

### 【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た。

マクロな観点からは、多数のタンパク質の細胞内局在およびその動態をハイスループットに観察できるハイコンテント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タンパク質や RNA 関連タンパク質を抽出し、細胞内挙動について解析を行った。その結果、種々の刺激下において、多くの新規タンパク質が多様な細胞内構造体に局在を変化させることが明らかになり、ncRNA 作動装置形成原理の理解に向けた大きな足がかりを得た。また、ヒト完全長 cDNA が組み込まれた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、乳がん発症および軟骨恒常性に関与する *miRNA* 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 (Ito Y, et al. *PNAS* 2017)。さらに、ゲノム編集手法を独自に最適化した技術を開発し、それを用いて *miRNA* 遺伝子座をピンポイントでノックアウトすることによって、骨格の形成や関節のホメオスタシスにおける生理機能を明らかにした(Inui M, et al. *Nat Cell Biol* 2018)。

一方、ミクロな観点からは、一分子イメージング技術を活用した研究が大きく展開した。特に、*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については、必要なすべての因子を突き止めて RISC 形成を試験管内で再構成し、その分子動態や Argonaute の動的構造変化を一分子レベルで観察することに成功した(Iwasaki et al. *Nature* 2015)。これにより、RISC 形成の詳細な過程や分子シャペロンの役割がはじめて明らかになった(Tsuboyama et al. *Mol Cell* 2018)。さらに、形成された RISC が標的 RNA を認識・切断・放出する様子、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(右図)、RISC が標的 RNA をすばやく正確に切断するしくみを明らかにした(Yao et al. *Mol Cell* 2015)。



RISC と標的 RNA との相互作用(矢印)およびその後の切断(点線に囲まれた標的 RNA の消失)

さらに、微小反応場を合理設計する基盤技術を開発(国際特許出願)し、遺伝子発現回路を集積化することによって、検出・演算・出力を自律的に行う分子デバイスの作製に成功した。この技術を応用し、人工細胞内の *miRNA* プロファイルに応じて、多様な出力 RNA を産生する遺伝子発現システムを実現した(Masubuchi et al. *Nat Nanotechnol* 2018)。また、ヒトに内在する莫大な RNA 構造モチーフを網羅した「RNA 構造ライブラリー」を作成する独自の技術を開発し、国際特許を申請した。この技術により、ncRNA 作動エレメントと作動装置形成との関係性をシステムティックかつ網羅的に対応付けることが可能となった。

以上の通り、ncRNA ネオタクソノミの拡張に向けた新技術の開発は、マクロ・ミクロの両面から大きな進展が見られ、当初想定された目的以上の成果が得られた。

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

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

5年間の領域活動は、大きな問題が生じることなく順調に運営されたとと言える。下記の2点については、特に運営上支障があった訳ではないが、予定外の事象として対応したものである。

#### 問題点1：共用機器の移設

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発展させるために、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、当時近隣の理化学研究所に在籍していた中川が機器管理や実験ノウハウの蓄積を行い、領域班員との相談窓口として領域内での共同利用を推進してきた。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した。当初、遠隔地への機器移動によって、領域内の機器利用に支障をきたす可能性が心配された。

#### 問題点1に対する対策：支援体制の工夫

機器設置当初から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る体制をとっていたので、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かった。また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体制を整え支援を推進した結果、当機器を用いた優れた成果に結びつけることができた。

#### 問題点2：後期公募班員の辞退

前期公募班員であった谷上（東大）が、後期公募班員として継続採択された直後に、ベンチャー企業への就職によって採択を辞退する事態となった。

#### 問題点2に対する対策：補欠の繰上げによる採択

この公募班員の欠員を補填するために、公募審査時に補欠となっていた小宮（OIST）を繰り上げて後期公募班員として採択した。前期公募班員時に優れた成果を発表していた谷上には、引き続き班友として、領域班会議や領域後援シンポジウムへの参加などを通して領域とのつながりを継続してもらうこととした。

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

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

##### ＜審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況＞

- 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。

国内の RNA 関連研究は国際的にも高い評価を受けてきたが、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）を総括班で購入し、東京大学に設置した。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。

設置機器を用いて細胞内の ncRNA 作動装置を高分解能で検出するための、サンプル作成の細かいノウハウが、計画班員の中川によって精力的に蓄積され、十分満足しうる観察像を取得できるようになった。これらのノウハウは、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した。またこ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）。



領域班員に超解像顕微鏡を広く利用してもらうために、機器利用講習会を計 3 回開催した。また遠方の班員にも機器を活用してもらうため、班員から送付された試料の受託観察を中川が受け付ける体制をとった。2016 年に中川の北海道大学への栄転により本機器も北大に移設したが、上記の支援体制が功を奏し、利用体制に大きな影響は生じなかった。

本機器を用いて、ncRNA 作動装置である核内構造体の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発表された（West et al. *J Cell Biol* 2016）に。さらに中川との共同研究で実施した計画班員の廣瀬による arcRNA 作動装置の研究成果としてに発表され（Yamazaki et al. *Mol Cell* 2018）、これらの成果は、本領域発の「arcRNA タクソン」の提唱に重要な役割を果たした（Hirose et al. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2019, Fox et al. *TIBS* 2018）。さらに、領域外の研究者にも本機器を広く活用してもらうため、受託観察、外部利用を受け付け、その成果が一流誌に発表された（Ando et al. *Nat Microbiol* 2016, Saitoh et al. *PNAS* 2017）。

- 新規タクソノ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ノ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。

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ノミを実現する上で必須であるが、計画班にはそのような研究者は参画していなかった。そこで、公募班員としてそうした技術を持つ研究者を採択して領域内での共同研究を推進した。まず 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（公募班・河原、矢野）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（公募班・木立、福永）を採択した。河原と矢野は、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と ncRNA の相互作用部位のマッピングに関して他の領域班員のアドバイザーとして活躍した。河原には実験のノウハウを含めたプロトコルを、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。後者の木立と福永は、

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 ncRNA 群の配列からの二次構造領域や上記 CLIP でマップされた RNA 上のタンパク質結合部位近傍の二次構造情報の抽出によって、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した。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。

一方で、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 arcRNA を次世代シーケンス解析で複数同定することに成功した (Chujo et al. *EMBO J* 2017)。また、計画班員の中川は 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、RNA 抽出の回収率低下を指標に、新規 arcRNA 候補を複数同定した (Komatsu et al. *RNA* 2019)。これらの新しいアプローチによって、当初の目的であった複数の arcRNA タクソンの確立が強く後押しされ、多数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。

#### 【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より多くの公募研究の採択が望まれる。

領域発足後に公募研究を採択するにあたって、ncRNA の作用機構や生体機能に深く踏み込み、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。実際に採択した公募班員の平均年齢は 39.8 歳、40%が 30 歳代と若手中心の研究体制を作り上げ、継続的に支援した。

#### <中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況>

- 研究項目 A02 は、中間評価の時点では論文投稿中ということであるが、論文発表に関して進捗の遅れが見受けられるため領域代表者の的確なフォローが今後は必要である。

A02「生理機能解析ユニット」では、ncRNA による生理現象の制御機構を、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た。通常、生物個体の実験は、他のユニットで用いられる培養細胞や生化学手法に比べて、準備期間に時間を要するため、中間審査の段階では必ずしも論文成果に結びついていない課題も存在した。その後、計画班の中川が作成した ncRNA ノックアウトマウスを用いた国際共同研究成果(Adriaens et al. *Nat Med* 2016, Mello et al. *Genes Dev* 2017, Kim et al. *Nat Genet* 2018)が相次いで発表され、また計画班の影山が国際共同研究で実施したショウジョウバエ Pri に関する論文(Chanut-Delalande et al. *Nat Commun* 2018)に発表された。さらに公募班の加藤が、前期公募班からの継続してきたミジンコの性決定を担う *DAPLAR* に関する論文(Sudo et al. *Curr Biol* 2018)に、またやはり前期公募班から継続した小林のマウスのメス特異的 ncRNA 機能に関する論文(Hosoi et al. *Nat Commun* 2018)に発表された。いずれも未だ世界的に例の少ない生物個体を用いた ncRNA の生理機能に関する貴重な成果であり、大きなインパクトを与えた。さらに、この他にもユビキチン化によるタンパク質分解を制御するガン関連 ncRNA や X 染色体不活化に関する ncRNA 機能に関する新知見も獲得された(Taniue et al. *PNAS* 2016, Sakaguchi et al. *Dev Cell* 2016)。これらは、生理機能を指標とした新たな ncRNA タクソノミのシーズとなりうる重要な知見である。以上のことから、特に領域後半において研究項目 A02 からは高水準な論文が多数発表され、領域目標の ncRNA 生理機能に関する重要知見を獲得が十分達成されたと言える。

#### 【参考意見】

- ncRNA 研究の裾野を広げる上でも公募研究の数を増やすべきではないかという意見が複数の委員からあった。

後期公募班員枠を積極的に拡充するために、計画班予算の一部を削減する代わりに公募班予算を上乗せするという大胆な方策を実施した。また、後期公募班員には、前期で得られた成果をさらに多面的に展開させるために必要な革新的技術を有する研究者を積極的採択し、前期よりも 2 件多い 16 件を採択した。その結果、領域内の有機的な連携が生まれ、数多くの共同研究成果に結実した。

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

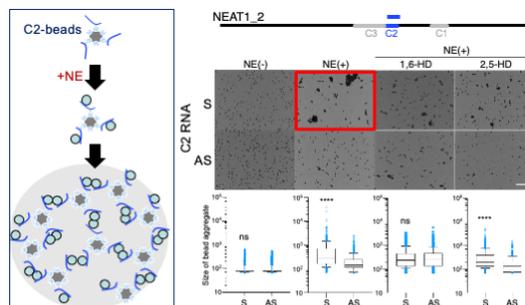
（3 ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。記述に当たっては、**本研究課題により得られたものに厳に限る**こととします。

### 【研究項目 A01: 作動エレメント同定ユニット】

#### A01-1（計画・廣瀬・富田）

・ arcRNA 作動エレメントの解明：A02 計画・中川と連携  
NEAT1 arcRNA の作動エレメントを、網羅的変異解析で同定し、その機能として液相分離の誘導活性（右図）を発見し、初めて作動エレメントに基づく arcRNA 機能の理解に成功した（Yamazaki et al. *Mol Cell* 2018）。



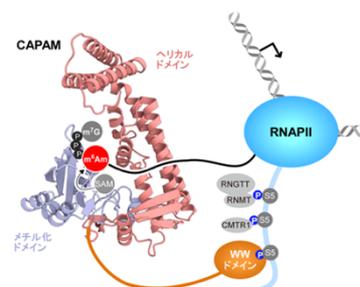
・ arcRNA 機能の一般性の発見：A01 計画・富田、A02 計画・中川と連携  
arcRNA 特有の難抽出性を利用した次世代シーケンス解析法を考案し、新規 arcRNA 候補を多数同定した。また核内構造体の RNase 感受性選別法で新規 RNA 構造体を同定した。こうしてタクソン確立に必要な arcRNA 機能の一般性が示された（Chujo et al. *EMBO J* 2017, Mannen et al. *J Cell Biol* 2016）。

・ ncRNA プロセッシング作動装置の作用機構の解明  
前駆体 let-7 末端のウリジル化酵素、U6 snRNA のメチル化酵素などの構造解析を通して、複数の ncRNA 機能制御の分子機構を多面的に明らかにした（Yamashita et al. *Nat Commun* 2017, 2019）。

・ arcRNA 作動装置の共通因子の同定  
arcRNA タクソンに属する ncRNA の作動装置の必須因子として、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（Kawaguchi et al. *PNAS* 2015）。

#### A01-2（計画・鈴木）

・ キャップ構造メチル化酵素の同定：A01 公募・西増と連携  
これまで 40 年以上その機能が不明であった哺乳動物の mRNA のキャップ構造のメチル化修飾酵素(CAPAM)を発見し、その構造と機能を解明した（右図）（Akichika et al. *Science* 2019）。



・ tRNAMe ac4C 修飾酵素の新規反応機構解明：A01 計画・富田と連携  
枯草菌 tRNAMet の ac4C 修飾酵素を同定し、酢酸イオンを基質として ac4C 修飾を導入することが明らかにした（Taniguchi et al. *Nat Chem Biol* 2018）。

・ 炭酸ガスを感じた RNA 修飾機構の発見：A02 計画・中川と連携  
tRNA の t6A 修飾は HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度を感じてダイナミックに変化することを発見し、がん細胞のワールブルク効果の一端を説明するメカニズムであることを提唱した（Lin et al. *Nat Commun* 2018）。

・ ncRNA 作動装置形成に必要な RNA 修飾の発見  
23S rRNA 上への会合に RlmE による特異的な 2'-O-メチル化が必要なことを明らかにし、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）。

#### A01-3（計画・塩見・大野）

・ piRNA 生合成機構の解明  
piRNA 生合成の場である Yb ボディ形成における Yb と Armitage の協調機構、Yb の多価相互作用の重要性などを明らかにした（Hirakata et al. *EMBO Rep* 2019, Ishizu et al. *Cell Rep* 2019）。

・ piRNA 前駆体の運命決定に関わる作動エレメントの同定  
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 (Ishizu et al. *Cell Rep* 2015)。

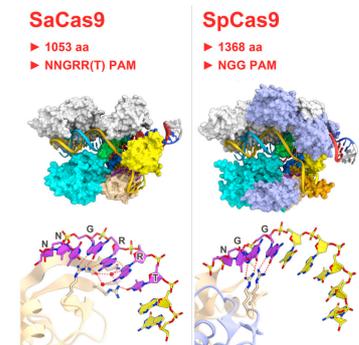
・核内 piRNA 作動装置による新規エピゲノム制御機構の提唱：A01 公募・岩崎と連携

Piwi-piRNA 複合体がリンカーヒストンの位置情報を規定することで、クロマチン構造を凝集させ、トランスポゾンの発現を抑制する、という Piwi-piRNA 複合体による新たなエピゲノム制御モデルを提唱した (Iwasaki et al. *Mol Cell* 2016)。

A01-2 (公募・西増)

・ゲノム編集 RNP 作動装置の作用機構の解明

ゲノム編集の作動装置である Cas9 の PAM 改変体と sgRNA、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。また様々なバクテリアに特徴的な 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) (Nishimasu et al. *Science* 2018, *Cell* 2015; Hirano et al. *Mol Cell* 2016, *Cell* 2016; Yamano et al. *Cell* 2016)。



A01-2 (公募・黒柳)

・スプライシングによるノンコーディング mRNA 産生意義の解明

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】

A02-1 (計画・中川)

・マウス個体における ncRNA によるがん転移抑制能の発見

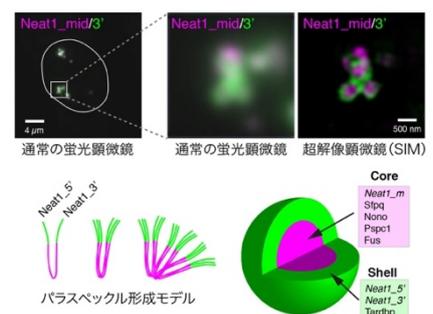
核内で高レベルに発現する *Malat1* lncRNA が、それまでの細胞モデルでの知見とは異なり、乳ガンモデルにおいて肺への転移をむしろ抑えていることを国際共同研究によって明らかにし、個体を用いた解析の重要性を示した (Kim et al. *Nat Genet* 2018)。

・コンテキストに対応した arcRNA のがん制御機能の発見：A01 計画・廣瀬と連携

計画研究④の中川と計画研究①の廣瀬は国際共同研究により、核内構造体パラスペックルの骨格である *Neat1* arcRNA が異なる発ガン誘導モデルにおいて、ガン細胞の悪性を促進 (Adriaens et al. *Nat Med* 2016)、あるいは抑制的 (Mello et al. *Genes Dev* 2017) に働くことを明らかにした。

・超解像顕微鏡による arcRNA 作動装置の微細構造解明：A01 計画・廣瀬と連携

*Neat1* の各領域を認識するプローブで FISH 解析を行い、超解像顕微鏡でパラスペックルを観察した結果、特徴的な Core-Shell スフェロイド構造を持ち、*Neat1* の両端が Shell に、中心部分が Core に分布していることが分かった (右図) (West et al. *J Cell Biol* 2016)。



・マウス個体での arcRNA 生理機能の解明：A01 計画・廣瀬と連携

*Neat1* の KO マウスを作製し、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り、arcRNA が実際に生体内で機能していることが初めて明らかにした。

(Nakagawa et al. *Development* 2014)。

A02-2 (計画・影山)

・ショウジョウバエ個体でペプチドコード RNA の機能解明

計画研究⑤の影山は lncRNA としてアノテーションされていたもののは実はペプチドに翻訳して機能している Pri が、エクジソンによる発生のタイミングを制御していることも明らかにした (Chanut-Delalande et al. *Nat Cell Biol* 2014, *Nat Commun* 2018)。

A02-6 (公募・谷上)

・タンパク質分解を制御する lncRNA の機能解明

大腸ガンで発現亢進している UPAT ncRNA がエピゲノム因子 UHRF1 と結合し、そのユビキチン化を

阻害することでタンパク質を安定化する新規機構を明らかにした (Taniue et al. *PNAS* 2016)。

#### A02-7 (公募・小林)

##### ・マウス個体におけるメス特異的 lncRNA の機能解明

マウス個体でメス特異的に X 染色体から発現する新規 lncRNA の欠損によって、小眼球症に類似した表現型が現れることも明らかとなった (Hosoi et al. *Nat. Comm* 2018)。

#### A02-10 (公募・加藤)

##### ・ミジンコの性決定に関わる lncRNA の機能解明

ミジンコの性決定転写因子 Dsx1 の 5' UTR 領域から転写される *DAPLAR* が、Dsx1 の翻訳を制御する新しいタイプの lncRNA であることを発見した (Sudo et al. *Curr Biol* 2018)。

### 【研究項目 A03: 新技術開発ユニット】

#### A03-1 (計画・泊、多田隈)

##### ・1分子 smFRET による RISC 形成過程の解明

1分子 smFRET 法を用いて、RISC 形成過程での2種類の分子シャペロン系による Ago タンパク質のダイナミックな構造変化と活性化機構を明らかにした (Tsuboyama et al. *Mol Cell* 2018)。

##### ・集積型遺伝子回路ナノチップの創成

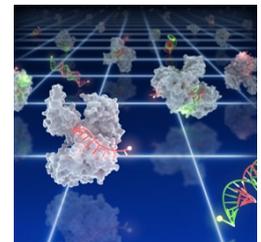
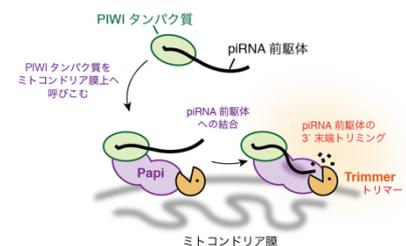
遺伝子発現回路を集積化し検出・演算・出力を自律的に行う分子デバイスの作製に成功し (国際特許出願)、この技術を応用して人工細胞内の miRNA プロファイルに応じて、多様な出力 RNA を産生する遺伝子発現システムを実現した (Masubuchi et al. *Nat Nanotechnol* 2018)。

##### ・piRNA プロセシング酵素の同定: A01 計画・鈴木と連携

世界中で探索されたもののその実体が不明であった、piRNA の成熟を担うエクソヌクレアーゼ「Trimmer」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)。

##### ・1分子イメージングによる RISC 会合と基質切断機構の解明: A01 計画・鈴木と連携

RISC 形成の試験管内再構成系を開発し、一分子観察することによって、RISC 形成の詳細な過程や分子シャペロンの役割を明らかにした (右図)。さらに RISC が標的 RNA を正確に切断し、その後放出するしくみを明らかにした (Iwasaki et al. *Nature* 2015; Yao et al. *Mol Cell* 2015)。



#### A03-2 (計画・浅原)

##### ・ゲノム編集の改良による miRNA 生体機能の解明

ゲノム編集手法を独自に最適化した技術を開発し、その技術で miRNA 遺伝子座をピンポイントで破壊することによって、骨格形成などにおける生理機能を明らかにした (Inui M, et al. *Nat Cell Biol* 2018)。

##### ・miRNA ターゲット探索リソースの開発

計画研究⑦の浅原は、全長 cDNA (ヒト) 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し、miRNA の新規ターゲット遺伝子を同定した。 (Ito Y, et al. *PNAS* 2017)

##### ・ラットにおけるゲノム編集系の開発

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、今までマウスでは明らかにできなかった腱の発生メカニズムを解明した (右図) (Suzuki et al., *PNAS* 2016)。



#### A03 (公募・木立)

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、lncRNA などに対して、計算機による完全な二次構造予測を初めて可能にした (Kawaguchi et al. *BMC Bioinformatics* 2016)。

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

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。
- 別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したものについては、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。

【発表論文】計 389 件（査読有 312 件、査読無 77 件） ※下記の記載論文は全て査読有

### 研究項目 A01: 作動エレメント同定ユニット

A01-1（計画・廣瀬、富田） 計 62 件（査読有 48 件、査読無 14 件）

- ▲ Molecular anatomy of the architectural NEAT1 noncoding RNA: The domains, interactors, and biogenesis pathway required to build phase-separated nuclear paraspeckles.  
\*Hirose T, Yamazaki T, Nakagawa S.  
*Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2019 May 1:e1545. doi: 10.1002/wrna.1545.
- ◎▲ Crystal structure of the Lin28-interacting module of human terminal uridylyltransferase that regulates let-7 expression.  
Yamashita S, Nagaike T, \*Tomita K.  
*Nat Commun*. 2019 Apr 29;10(1):1960. doi: 10.1038/s41467-019-09966-5.
- ◎▲ Functional Domains of NEAT1 Architectural lncRNA Induce Paraspeckle Assembly through Phase Separation.  
Yamazaki T, Souquere S, Chujo T, Kobelke S, Chong Y, Fox AH, Bond CS, Nakagawa S, Pierron G, \*Hirose T.  
*Mol Cell*. 2018 Jun 21;70(6):1038-1053.e7. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.019.
- Paraspeckles: Where Long Noncoding RNA Meets Phase Separation.  
\*Fox AH, Nakagawa S, Hirose T, Bond CS.  
*Trends Biochem Sci*. 2018 Feb;43(2):124-135. doi: 10.1016/j.tibs.2017.12.001.
- ◎▲ Unusual semi-extractability as a hallmark of nuclear body-associated architectural noncoding RNAs.  
Chujo T, Yamazaki T, Kawaguchi T, Kurosaka S, Takumi T, Nakagawa S, \*Hirose T.  
*EMBO J*. 2017 May 15;36(10):1447-1462. doi: 10.15252/embj.201695848.
- ◎▲ Crystal structures of U6 snRNA-specific terminal uridylyltransferase.  
Yamashita S, Takagi Y, Nagaike T, Tomita K.  
*Nat Commun*. 2017 Jun 7;8:15788. doi: 10.1038/ncomms15788.
- ◎▲ The Sam68 nuclear body is composed of two RNase-sensitive substructures joined by the adaptor HNRNPL.  
Mannen T, Yamashita S, Tomita K, Goshima N, \*Hirose T.  
*J Cell Biol*. 2016 Jul 4;214(1):45-59. doi: 10.1083/jcb.201601024.
- ▲ 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.

A01-2 (計画・鈴木) 計 51 件 (査読有 51 件、査読無 0 件)

1. ◎ ▲ Cap-specific terminal N 6-methylation of RNA by an RNA polymerase II-associated methyltransferase.  
Akichika S, Hirano S, Shichino Y, Suzuki T, Nishimasu H, Ishitani R, Sugita A, Hirose Y, Iwasaki S, Nureki O, \*Suzuki T.  
*Science.* 2019 Jan 11;363(6423). pii: eaav0080. doi: 10.1126/science.aav0080.
2. ▲ Acetate-dependent tRNA acetylation required for decoding fidelity in protein synthesis.  
Taniguchi T, Miyauchi K, Sakaguchi Y, Yamashita S, Soma A, Tomita K, \*Suzuki T.  
*Nat Chem Biol.* 2018 Nov;14(11):1010-1020. doi: 10.1038/s41589-018-0119-z.
3. ▲ CO<sub>2</sub>-sensitive tRNA modification associated with human mitochondrial disease.  
Lin H, Miyauchi K, Harada T, Okita R, Takeshita E, Komaki H, Fujioka K, Yagasaki H, Goto YI, Yanaka K, Nakagawa S, Sakaguchi Y, \*Suzuki T.  
*Nat Commun.* 2018 May 14;9(1):1875. doi: 10.1038/s41467-018-04250-4.
4. RNA modifications: what have we learned and where are we headed?  
\*Frye M, \*Jaffrey SR, \*Pan T, \*Rechavi G, \*Suzuki T.  
*Nat Rev Genet.* 2016 Jun;17(6):365-72. doi: 10.1038/nrg.2016.47.
5. 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)

A01-3 (計画・塩見、大野) 計 22 件 (査読有 19 件、査読無 3 件)

1. Requirements for multivalent Yb body assembly in transposon silencing in *Drosophila*.  
Hirakata S, Ishizu H, Fujita A, Tomoe Y, \*Siomi MC.  
*EMBO Rep.* 2019 Apr 30. pii: e47708. doi: 10.15252/embr.201947708.
2. 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.
3. 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.

A01-2 (公募・西増) 計 17 件 (査読有 17 件、査読無 0 件)

1. ▲ Engineered CRISPR-Cas9 nuclease with expanded targeting space.  
\*Nishimasu H., Shi X, Ishiguro S, Gao L, Hirano S, Okazaki S, Noda T, Abudayyeh O, Gootenberg J, Mori H, Oura S, Holmes B, Tanaka M, Seki M, Hirano H, Aburatani H, Ishitani R, Ikawa M, Yachie N, Zhang F, \*Nureki O.  
*Science.* 2018 Sep 21;361(6408):1259-1262. doi: 10.1126/science.aas9129.
2. ▲ Structural Basis for the Altered PAM Recognition by Engineered CRISPR-Cpf1.  
\*Nishimasu H., Yamano T, Gao L, Zhang F, Ishitani R, \*Nureki O.  
*Mol Cell.* 2017 Jul 6;67(1):139-147.e2. doi: 10.1016/j.molcel.2017.04.019
3. ▲ 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.

A01-4,9 (公募・岩崎) 計 16 件 (査読有 11 件、査読無 5 件)

1. Piwi Modulates Chromatin Accessibility by Regulating Multiple Factors Including Histone H1 to Repress

Transposons.

Iwasaki YW, Murano K, Ishizu H, Shibuya A, Iyoda Y, Siomi MC, \*Siomi H, \*Saito K.

*Mol Cell*. 2016 Aug 4;63(3):408-19. doi: 10.1016/j.molcel.2016.06.008.

**A01-3,8 (公募・黒柳)** 計 7 件 (査読有 7 件、査読無 0 件)

1. 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 ; 44(12): 5585–5596. pii: gkw152.

**A01-10 (公募・佐渡)** 計 4 件 (査読有 4 件、査読無 0 件)

1. ▲Role of SmcHD1 in establishment of epigenetic states required for the maintenance of the X-inactivated state in mice.  
Sakakibara Y, Nagao K, Blewitt M, Sasaki H, Obuse C, \*Sado T.  
*Development*. 2018 Sep 25;145(18). pii: dev166462. doi: 10.1242/dev.166462.

**研究項目 A02: 生理機能解析ユニット**

**A02-1 (計画・中川)** 計 29 件 (査読有 29 件、査読無 0 件)

1. Long noncoding RNA MALAT1 suppresses breast cancer metastasis.  
Kim J, Piao HL, Kim BJ, Yao F, Han Z, Wang Y, Xiao Z, Siverly AN, Lawhon SE, Ton BN, Lee H, Zhou Z, Gan B, Nakagawa S, Ellis MJ, Liang H, Hung MC, You MJ, Sun Y, \*Ma L.  
*Nat Genet*. 2018 Dec;50(12):1705-1715. doi: 10.1038/s41588-018-0252-3.
2. ▲Control of Chromosomal Localization of Xist by hnRNP U Family Molecules.  
Sakaguchi T, Hasegawa Y, Brockdorff N, Tsutsui K, Tsutsui KM, Sado T, Nakagawa S.  
*Dev Cell*. 2016 Oct 10;39(1):11-12. doi: 10.1016/j.devcel.2016.09.022.
3. ◎▲Structural, super-resolution microscopy analysis of paraspeckle nuclear body organization.  
West JA, Mito M, Kurosaka S, Takumi T, Tanegashima C, Chujo T, Yanaka K, Kingston RE, Hirose T, Bond C, Fox A, \*Nakagawa S.  
*J Cell Biol*. 2016 Sep 26;214(7):817-30. doi: 10.1083/jcb.201601071.
4. ◎p53 induces formation of NEAT1 lncRNA-containing paraspeckles that modulate replication stress response and chemosensitivity.  
Adriaens C, Standaert L, Barra J, Latil M, Verfaillie A, Kalev P, Boeckx B, Wijnhoven PW, Radaelli E, Vermi W, Leucci E, Lapouge G, Beck B, van den Oord J, Nakagawa S, Hirose T, Sablina AA, Lambrechts D, Aerts S, Blanpain C, \*Marine JC.  
*Nat Med*. 2016 Aug;22(8):861-8. doi: 10.1038/nm.4135.
5. ◎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.

**A02-2 (計画・影山)** 計 2 件 (査読有 2 件、査読無 0 件)

1. ▲Shavenbaby and Yorkie mediate Hippo signaling to protect adult stem cells from apoptosis.  
Bohère J, Mancheno-Ferris A, Al Hayek S, Zanet J, Valenti P, Akino K, Yamabe Y, Inagaki S, Chanut-Delalande H, Plaza S, Kageyama Y, Osman D, Polesello C, Payre F.  
*Nat Commun*. 2018 Nov 30;9(1):5123. doi: 10.1038/s41467-018-07569-0
2. 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.

**A02-4,14 (公募・加藤)** 計 7 件 (査読有 7 件、査読無 0 件)

1. ◎▲A 5' UTR-Overlapping LncRNA Activates the Male-Determining Gene *doublesex1* in the Crustacean *Daphnia magna*.  
Kato Y, Perez CAG, Mohamad Ishak NS, Nong QD, Sudo Y, Matsuura T, Wada T, \*Watanabe H.  
*Curr Biol.* 2018 Jun 4;28(11):1811-1817.e4. doi: 10.1016/j.cub.2018.04.029.

**A02-5 (公募・川田)** 計 4 件 (査読有 4 件、査読無 0 件)

1. ◎▲CRISPR/Cas9 mediated targeting of multiple genes in *Dictyostelium*.  
Sekine R, Kawata T, Muramoto T.  
*Sci Rep.* 2018 May 31;8(1):8471. doi: 10.1038/s41598-018-26756-z.

**A02-1 (公募・谷上)** 計 11 件 (査読有 6 件、査読無 5 件)

1. ◎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: 新技術開発ユニット

**A03-1 (計画・泊、多田隈)** 計 35 件 (査読有 33 件、査読無 2 件)

1. ◎▲Iruka Eliminates Dysfunctional Argonaute by Selective Ubiquitination of Its Empty State.  
Kobayashi H, Shoji K, Kiyokawa K, Negishi L, \*Tomari Y.  
*Mol Cell.* 2019 Jan 3;73(1):119-129.e5. doi: 10.1016/j.molcel.2018.10.033.
2. ◎▲Conformational Activation of Argonaute by Distinct yet Coordinated Actions of the Hsp70 and Hsp90 Chaperone Systems.  
Tsuboyama K, Tadakuma H, \*Tomari Y.  
*Mol Cell.* 2018 May 17;70(4):722-729.e4. doi: 10.1016/j.molcel.2018.04.010.
3. ▲Construction of integrated gene logic-chip.  
Masubuchi T, Endo M, Iizuka R, Iguchi A, Yoon DH, Sekiguchi T, Qi H, Inuma R, Miyazono Y, Shoji S, Funatsu T, Sugiyama H, Harada Y, Ueda T, Tadakuma H.  
*Nat Nanotechnol.* 2018 Oct;13(10):933-940. doi: 10.1038/s41565-018-0202-3.
4. ◎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.
5. ◎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.
6. ◎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.
7. ◎▲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.
8. 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.

**A03-2 (計画・浅原)** 計 26 件 (査読有 21 件、査読無 5 件)

1. Combinatorial CRISPR/Cas9 Approach to Elucidate a Far-Upstream Enhancer Complex for Tissue-Specific Sox9 Expression.  
Mochizuki Y, Chiba T, Kataoka K, Yamashita S, Sato T, Kato T, Takahashi K, Miyamoto T, Kitazawa M, Hatta T, Natsume T, Takai S, \*[Asahara H](#).  
*Dev Cell*. 2018 Sep 24;46(6):794-806.e6. doi: 10.1016/j.devcel.2018.07.024.
2. ▲Dissecting the roles of miR-140 and its host gene  
Inui M, Mokuda S, Sato T, Tamano M, Takada S, \*[Asahara H](#).  
*Nat Cell Biol*. 2018 May;20(5):516-518. doi: 10.1038/s41556-018-0077-4.
3. ▲Identification of targets of tumor suppressor microRNA-34a using a reporter library system.  
Ito Y, Inoue A, Seers T, Hato Y, Igarashi A, Toyama T, Taganov KD, Boldin MP, \*[Asahara H](#).  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Apr 11;114(15):3927-3932. doi: 10.1073/pnas.1620019114.

**A03-1 (公募・木立)** 計 2 件 (査読有 2 件、査読無 0 件)

1. ▲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.

**【書籍・刊行物】** ※領域班員が編集に関わったものを記載する

1. 「細胞内の相分離」*実験医学* (2019年6月刊行) 加藤、[廣瀬](#)編
2. 「Clues to long noncoding RNA taxonomy」*Biochim et Biophys Acta* 誌特集号 (2016年1月刊行)  
[廣瀬](#)・[中川](#)編
3. 「Nuclear bodies and Noncoding RNAs –Methods and Protocols-」*Methods in Mol Biol* (1262) (2015年3月刊行) [中川](#)・[廣瀬](#)編
4. 「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月刊行) [廣瀬](#)・[泊](#)編
5. 「ノンコーディング RNA テキストブック」*実験医学* (2015年12月刊行) [塩見](#)・[中川](#)・[浅原](#)編

**【シンポジウムの開催】**

1. 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
2. 第2回国際シンポジウム Non-coding RNA neo-taxonomy 2017年 東京
3. 第3回国際シンポジウム JAJ RNA 2018 2018年11月5~7日 札幌
4. Tokyo RNA Club (計7回) 東京
5. RNA フロンティアミーティング (計5回) 白浜、蔵王、ニセコなど
6. 国内学会 (分子生物学会、RNA 学会など) シンポジウム、ワークショップ (計9回)

**【アウトリーチ活動】** (計 21 件から抜粋)

1. [廣瀬](#)哲郎：北大こども研究所・特別講演 2019年3月、2017年10月
2. [浅原](#)弘嗣：東京医科歯科大学ピアノの会 第21回市民フォーラム 2018年6月
3. [塩見](#)美喜子：慶應大医学部学生自主企画サマースクール、2016年7月
4. [大野](#)睦人：第72回京都大学丸の内セミナー 2016年7月
5. [西増](#)弘志：化学への招待—講演会 2016 2016年2月
6. [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
7. [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
8. [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
9. [鈴木](#) 勉：高校生のためのオープンキャンパス 2014、2014年8月

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

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

### 【連携状況の概要】

本領域では、9名の計画研究者、24名の公募研究者が、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た。計5回の領域会議を開催し、研究者間の実施内容の相互理解とともに密な議論を行なった。特に公募班員が加わった直後の領域会議では、各班員の有する特筆すべき解析技術や解析機器を班員一堂の前でそれぞれ公表してもらい、班員に連携を呼びかける試みを行った。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や刊行物に公表した。また領域班員の有する様々な実験技術プロトコル集を編集・出版した。

以下の表にまとめたように、計画班員と公募班員のほぼ全員が何らかの形で領域内での研究連携に関わり、その数は106件にも及んでいる。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た。また異なるバックグラウンドを持つ研究者間の連携による融合研究、例えば細胞生物学と構造生物学、生化学と生物物理学、バイオインフォマティクスと細胞生物学などによって各班員の研究の幅が大きく広がった。またA03の研究項目で新たに開発された画期的な解析技術も、班員の研究に有効に用いられたことも特筆に値する。こうした多数の連携から、すでに廣瀬と富田、廣瀬と中川、鈴木と富田、鈴木と西増、塩見と中川、泊と多田隈、泊と鈴木などから合計35報の高水準な共著論文が発表されており、本領域内での連携体制が有効に機能したことをあらわしている。

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	三嶋	佐渡	藤原	藤生	矢野	尾野	北川	斎藤	福永	足達					
計画研究	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	三嶋	佐渡	藤原	藤生	矢野	尾野	北川	斎藤	福永	足達					
情報・技術の提供先	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																																						
三嶋																																							
佐渡																																							
藤原																																							
藤生																																							
矢野																																							
尾野																																							
北川																																							
斎藤																																							
福永																																							
足達																																							

### 【連携の具体的内容】（計106件から抜粋）

- 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 標的遺伝子についてのバイオインフォマティクスの共同研究
- 廣瀬⇔福永：ncRNA 二次構造情報に関するバイオインフォマティクスの共同研究
- 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

【上記連携から生まれた共著論文】(計 35 報から抜粋)

Yamazaki et al. *Mol Cell* 2018, Chujo et al. *EMBO J* 2017 (廣瀬と中川)、Mennen et al. *J Cell Biol* 2016 (廣瀬と富田)、Akichika S et al. *Science*. 2019 (鈴木と西増)、Taniguchi et al. *Nat Chem Biol* 2018 (鈴木と富田)、Lin et al. *Nat Commun* 2018 (鈴木と中川)、Ishizu et al. *Cell Rep* 2015 (塩見と岩崎)、Sakaguchi et al. *Dev Cell* 2016 (中川と佐渡)、West et al. *J Cell Biol* 2015 (中川と廣瀬)、Izumi et al. *Cell* 2016 (泊と鈴木)、Iwasaki et al. *Nature* 2015 (泊と多田隈と鈴木)、Yao et al. *Mol Cell* 2015 (多田隈と泊)

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

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について記述してください（総括班における設備共用等への取組の状況を含む。）。

### 【研究支援活動のための共通機器の設置と共同利用運営】

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発展させるために、超解像顕微鏡を平成 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、まず東京大学に設置した。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計 3 回開催した。その後、担当計画班員の移籍に伴い、北海道大学薬学研究院へ移設したが、引き続き領域内外研究者に対する共同利用を推進した結果、本機器の使用回数は 451 回に上った。特に ncRNA 作動装置の微細構造の観察には、絶大な威力が発揮され、計画班員による 2 本の一流ジャーナル論文（West et al. *J Cell Biol* 2015, Yamazaki et al. *Mol Cell* 2018）に結びつき、それに関する解説記事が掲載されるなど大きなインパクトを与えた。

### 【領域会議の開催】

領域発足後の平成 26 年 12 月を皮切りに、計 5 回の領域班会議を開催した。各領域会議では、その時々領域の状況に柔軟に対応して、公募班員との交流、中間評価での指摘事項への対応の必要性、領域内連携の推進方策などのテーマが重点的に議論され、こうした活動を通して領域の方向性と現状が班員内で共有された。

### 【領域ウェブサイトの運営】

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、研究成果の紹介や、国際学会のレポート、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た。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た。1 ヶ月当たりの平均訪問者数は 7,139 人（通算 399,805 人）、ページビューは 1 ヶ月当たり 30,551 ページ（通算 1,710,830 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・中国等からも多数訪問された。このように、本領域では、ニューズレター等の印刷・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た。

### 【若手研究者の国際学会への参加支援】

総括班費によって、研究の成果発表と情報収集のための「若手フェロシップ」制度を設け、若手研究者の国際学会への参加支援を積極的に行った。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計 42 名の支援を行った。

### 【国際共同研究の推進】

国際活動支援費によって、国際共同研究の支援、海外研究機関の訪問支援、海外著名研究者の招聘を積極的に推進した。特に国際共同研究の支援では、領域班員が保有する遺伝子改変マウスなどの貴重なリソースの海外研究者への輸送費などを支援した。また海外研究者との直接的な交流を推進するために、海外共同研究機関の訪問（18 名の領域班員が訪問）、また海外共同研究者の日本への招聘（33 名を招聘）にかかる旅費を支援した。その結果、投稿準備中のものも含めて複数の国際共著論文に結びついた（Ahmed et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018, Fox et al. *Trends Biochem Sci* 2018 など）。

### 【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、国際シンポジウムを計 3 回主催し、また小規模な国際会議（Tokyo RNA club）を計 7 回後援した。また日本分子生物学会等でのシンポジウムや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」を毎年計 5 回後援した。

・研究費の使用状況 ((1), (2), (3) を合わせて3ページ以内)

(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
26	超解像顕微鏡一式(共用)	Carl Zeiss社製ELYRA PS.1	1	69,811,200	69,811,200	東京大学
	アコースティックソルビライザー	Covaris S-series	1	7,548,400	7,548,400	理化学研究所
	蛋白質結晶化観察装置	Formulatrix R154 VZ1	1	7,462,800	7,462,800	産業技術総合研究所
	ルミノ・イメーリアアナライザー一式	GEヘルスケア社製 Amersham Imager600RGB バイオラッド社製	1	5,999,400	5,999,400	東京大学
	タンパク質精製装置	GEヘルスケア社製AKTA pure 25L1	1	4,806,000	4,806,000	北海道大学
	Volocityベースキット一式	米国ハークネル社製 I18760 I18801	1	3,688,200	3,688,200	北海道大学
	DNA Shearingシステム	エッペンドルフ社製・43R	1	2,210,328	2,210,328	京都大学
	イノベーションキューベータシェーカー	米国 Covaris 社製 M220	1	3,499,200	3,499,200	神戸大学
27	ケミルミイメジャー	1708370CAM	1	4,093,200	4,093,200	理化学研究所
	デジタルCCDカメラ	アントール・テクノロジー社製 iXon Ultra DU-8	1	3,645,000	3,645,000	東京大学
28	電動顕微鏡	独国カールツァイスマイクロスコピー社製 Axio Observer 7	1	7,608,600	7,608,600	神戸大学
	超微量COフリーザー一式	SU780UE	1	3,139,560	3,139,560	北海道大学
	リアルタイム細胞アナライザー	ACEA Biosciences 社製 PTCA	1	2,577,960	2,577,960	北海道大学
	CFXConnectリアルタイムPCR解析システム一式	185-5201J1	1	2,550,000	2,550,000	北海道大学
29	レーザスキャンモジュール	独国カールツァイスマイクロスコピー社製 LSM 800	1	8,139,960	8,139,960	神戸大学
30	ケミルミイメーキングシステム一式	FUSION FX.7ED GE	1	7,581,600	7,581,600	東京大学
	CytoFLEX S System一式	B2-R02-V0-Y4	1	6,814,800	6,814,800	東京大学

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

#### 【平成26年度】

##### ・旅費

1. SBSR ミーティング（アメリカ、ボルチモア）とスクリプス研究所（アメリカ、サンディエゴ）にて研究打合せ（東京⇄サンディエゴ、ボルチモアの交通費、宿泊費等）772,631円 計画班
2. JAJ RNA2014 ミーティング（オーストラリア、シドニー）に参加（東京⇄シドニーの交通費等）352,320円 計画班

##### ・人件費・謝金

1. 博士研究員3名の雇用 8,300,698円 計画班
2. 博士研究員の雇用 4,378,878円 計画班
3. 博士研究員（非常勤）2名の雇用 4,183,299円 計画班

##### ・その他

1. 動物飼育管理料 1,003,690円 計画班
2. 領域班会議 419,165円 総括班

#### 【平成27年度】

##### ・旅費

1. Ribosome synthesis meeting（ベルギー、ブリュッセル）に参加（東京⇄ブリュッセルの交通費、宿泊費等）589,940円 計画班
2. RNA2015（マディソン、アメリカ）に参加（東京⇄マディソン交通費等）515,314円 計画班
3. スクリプス研究所（アメリカ、サンディエゴ）にて研究打合せ（東京⇄サンディエゴの交通費、宿泊費等）455,885円 計画班
4. キーストーン会議（アメリカ、キーストーン）へ参加とテキサス大学（アメリカ、ダラス）にて研究打合せ（札幌⇄ダラス）315,128円 国際活動支援班

##### ・人件費・謝金

1. 博士研究員2名の雇用 11,423,400円 計画班
2. 博士研究員2名の雇用 8,294,526円 計画班
3. 博士研究員1名の雇用 7,100,913円 計画班
4. 博士研究員1名の雇用 4,516,896円 計画班
5. 博士研究員（非常勤）2名の雇用 4,306,356円 計画班

##### ・その他

1. 動物飼育管理料 1,055,700円 計画班
2. 領域班会議 629,732円 総括班

#### 【平成28年度】

##### ・旅費

1. EMBO Workshop（モンペリエ、フランス）に参加（東京⇄モンペリエ交通費、宿泊費等）676,335円 計画班
2. Regulatory & Non-Coding RNAs（アメリカ、ニューヨーク）に参加、ロックフェラー大学にて研究打ち合わせ、（東京⇄ニューヨークの交通費等）322,803円 国際活動支援班
3. 26th tRNA conference（韓国、済州島）に参加（東京⇄済州島の交通費、宿泊費等）300,185円 計画班
4. Annual European Congress of Rheumatology（イギリス、ロンドン）に参加（東京⇄ロンドンの交通費、宿泊費等）157,400円 計画班

##### ・人件費・謝金

1. 博士研究員（常勤）2名の雇用 11,423,400円 計画班
2. 博士研究員1名の雇用 5,922,209円 計画班
3. 博士研究員1名の雇用 5,761,673円 計画班
4. 博士研究員（非常勤）2名の雇用 5,459,304円 計画班

5. 博士研究員1名の雇用 5,292,724円 計画班
6. 博士研究員1名の雇用 4,704,955円 計画班

・その他

1. タンパク質精製装置(AKTA)修理 1,749,600円 計画班
2. 領域班会議 789,100円 総括班
3. 国際シンポジウム開催費 768,755円 総括班

【平成29年度】

・旅費

1. RNAi-RNA biology meeting (バルバドス)に参加、トロント大学(カナダ、トロント)にて研究打ち合わせ(東京⇄カナダ⇄バルバドス交通費、宿泊費等) 562,552円、国際活動支援班
2. Multidisciplinary Insights into Higher Order Complexes meeting (パース、オーストラリア)に参加(札幌⇄パース交通費、宿泊費等) 420,624円 計画班
3. EMBO/EMBL Symposium (ハイデベルグ、ドイツ)に参加(東京⇄ハイデベルグ交通費、宿泊費等) 420,309円 計画班
4. キーストーン会議(アメリカ、キーストーン)への参加とテキサス大学(アメリカ、ダラス)で研究打ち合わせ(札幌⇄デンバー・ダラスの交通費、宿泊費等) 406,214円 国際活動支援班
5. RNA2017(プラハ、チェコ)に参加(札幌⇄プラハの交通費) 276,450円 計画班

・人件費・謝金

1. 博士研究員2名の雇用 11,423,400円 計画班
2. 博士研究員2名の雇用 8,441,327円 計画班
3. 博士研究員1名の雇用 4,704,955円 計画班
4. 博士研究員1名の雇用 4,121,476円 計画班
5. 博士研究員(非常勤)2名の雇用 3,873,803円 計画班

・その他

1. 動物飼育管理料 1,203,770円 計画班
2. 領域班会議 998,503円 総括班

【平成30年度】

・旅費

1. Ribosome Structure and Function 2019(メキシコ、メリダ)に参加(東京⇄メリダの交通費、宿泊費) 493,220円 計画班
2. 60th Annual Drosophila Research Conference(アメリカ、ダラス)に参加(神戸⇄ダラスの交通費、宿泊費) 453,768円 計画班
3. RNA2018(アメリカ、バークレー)に参加、カリフォルニア大学バークレー校にて研究打ち合わせ(東京⇄バークレー間交通費、宿泊費、日当) 359,173円、国際活動支援班
4. スクリプス研究所(アメリカ、サンディエゴ)にて研究打ち合わせ(東京⇄サンディエゴの交通費) 330,710円 計画班

・人件費・謝金

1. 博士研究員1名の雇用 5,720,907円 計画班
2. 博士研究員2名の雇用 4,223,179円 計画班
3. 博士研究員(非常勤)1名の雇用 2,859,742円 計画班

・その他

1. 質量分析装置保守費 3,238,920円 計画班
2. 国際シンポジウム開催費 911,695円 総括班
3. 領域班会議 740,066円 総括班

(3) 最終年度(平成30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。

## 9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1 ページ以内）

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

### 1. 当該学問分野と関連学問分野への波及効果

本領域が目指したのは、個々の ncRNA 分子の特性を担う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ことであった。ncRNA の機能分類のコンセプトは、本領域発足後に世界中で盛んに叫ばれるようになったが、作動エレメントに注目したアプローチは、本領域独自のものであり、国際的にも高い評価を受けた。A01: 作動エレメント同定ユニットでは、arcRNA という本領域オリジナルな ncRNA の作動エレメントの同定に端を発し、作動装置の形成・機能の分子機構の理解にまでたどり着いた。この一連の研究では、ncRNA が複数の作動エレメントからなるモジュラー構造をもつこと、作動エレメントの機能として、細胞生物学のホットトピックスである相分離現象に結びついたことなど、新しい学問分野を拓く先駆的成果が生み出された。さらに arcRNA の一般性が示された事によって、arcRNA を独立のタクソンとして提唱するに至ったことは、本領域の目指すネオタクソノミの実践成果として、この学問分野にインパクトを与えた。次にもう一つの作動エレメントである化学修飾は、現在エピトランスクリプトーム研究として大きな盛り上がりを見せているが、本領域の RNA 修飾研究は、現在の世界的な研究潮流を先導するものであり、化学修飾の同定、生合成経路の解明、その生理機能に至る全般において当該学問分野に大きな影響を与えた。この他にも複雑で未だ謎に包まれていた piRNA の生合成機構も、本領域発の数々の先進的成果によって、piRNA タクソンの一般性のある分子機構の解明に至った。構造生物学による ncRNA 作動装置の解析も、特にゲノム編集装置の研究で世界をリードする成果が数多く輩出され、ゲノム編集技術のための基盤知見として大きな注目をあつめた。A02: 生理機能ユニットでは、マウス個体での ncRNA 生理機能として妊孕性決定や器官形成に関わる新機能が次々と明らかにされた。特に arcRNA については、作動エレメントから生理機能までが一気通貫で明らかにされ、arcRNA タクソンの確立を後押しした。この他にも、翻訳やタンパク質分解に関わる新しいタイプの ncRNA 機能が発見され、新しいタクソンのシーズとして今後の展開が大いに注目される。A03: 新技術開発ユニットでは、ncRNA 作動装置の 1 分子観察による画期的な解析技術が開発され、小分子 RNA の作動装置 RISC の詳細な形成・作用機構が解明され、世界に大きなインパクトを与えた。この他にも A03 ではバイオインフォマティクス、質量分析、合成生物学の独自解析ツールが生み出され、領域内外の研究者との共同研究が盛んに行われたため、領域終了後も画期的な成果を生み出し続けることが期待される。本領域活動からは、計 389 編もの論文が発表されており、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、新聞等の国内外メディアにも 102 件掲載された。また、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、2 つの総説集 (*Biochim Biophys Acta* 2015, *Non-coding RNA* 2019 予定) と実験プロトコル集 (*Methods Mol Biol* 2014) を刊行した。またのべ 60 名の海外著名研究者を招聘し、活発な交流を推進することによって、本領域のコンセプトや成果を積極的に発信した。こうした活動によって、本領域の研究は、世界の当該学問分野で広く認知され、大いに注目される存在となった。

### 2. 実務・社会への波及効果

ncRNA は、ヒトゲノムの 98% を占める一見ジャンクとされた領域から産生される謎に満ちた生体分子である。近年、一般向けの科学 TV 番組でもこうしたゲノムの未開領域の存在が取り上げられており、本領域が取り組んだ「ncRNA の不思議」は、一般向けの自然科学の話題の中でも大きな関心事になっている。本領域では、実務・社会につながる成果として、ncRNA と疾患との関わりが、主に A02: 生理機能ユニットから明らかにされた。近年、世界的にも ncRNA の機能異常が疾患につながる事例が数多く発見され、ncRNA は次世代の創薬標的として大きな注目を集めている。そのような中で、本領域からは、疾患関連 ncRNA の一歩踏み込んだ作動エレメントや作用機構までもが明らかにされた点は特筆に値する。近い将来、こうした作動エレメントに直接作用する化合物のスクリーニングなどを通して、次世代の創薬基盤につながることを期待される。ゲノム編集は、すでに一般社会の身近な話題となる技術になっているが、A01: 作動エレメント同定ユニットでは、性能の良いゲノム編集技術の確立に向けた世界最先端の知見が次々と獲得され、すでにその知見が医療応用研究にも取り入れられ始めている。また、A03: 新技術開発ユニットで生み出された集積型遺伝子回路ナノチップチップは、今後の人工遺伝子回路をデザインするための基盤技術となりうるものであり、さらに A01 で明らかにされた ncRNA による液相分離を介した空間隔離機構と組み合わせることによって、細胞環境を人工的に模倣できる可能性を秘めている。このように本領域研究は、一般社会における自然科学の基礎概念、医療技術、次世代の融合科学の発展に向けた多くの可能性を提示したと言える。

## 10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1ページ以内）

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

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

### 【若手研究者の育成に係る取組】

- 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、平成 27 年度には山形県蔵王、平成 28 年度には北海道ニセコ、平成 29 年度には京都府比叡山、そして平成 30 年度には静岡県修善寺にて開催され、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。
- 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「若手フェロシップ制度」を設け、合計 42 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。
- 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 を計 7 回後援し、開催費を総括班費からサポートした。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計 29 名が共に講演し、世界的な著名研究者から有益な助言をもらうなど有意義な交流が実現した。

### 【研究に参画した若手研究者の研究終了後の動向】

- 職位の昇進（計 16 名）（研究代表者のみを抜粋して記載）  
長尾 恒治：北海道大学講師から大阪大学准教授  
西増 弘志：東京大学助教から同准教授  
岩崎 由香：慶應義塾大学助教から同講師  
河岡 慎平：ATR 主任研究員から京都大学特定准教授  
小宮 怜奈：OIST サイエンステクノロジーアソシエイト I から同 II  
三嶋 雄一郎：東京大学助教から京都産業大学准教授  
藤生 克仁：東京大学特任助教から同特任准教授  
北川 大樹：国立遺伝学研究所教授から東京大学教授  
足達 俊吾：産業技術総合研究所研究員から同研究チーム長
- アカデミアポジションへの就職（計 8 名）  
博士研究員から立命館大学助教、山梨大学助教、東京理科大学助教、がん研究会研究員、理化学研究所研究員などに就任した。
- 海外留学（計 11 名）  
米国（MIT, カリフォルニア大、シカゴ大など）に 7 名、ヨーロッパに 3 名、アジアに 1 名が博士研究員として留学した。
- 国内研究機関への博士研究員やスタッフとして就職（計 5 名）  
東京大学、大阪大学、産業技術総合研究所、理化学研究所に職を得た。
- 会社への就職（計 6 名）  
ジョンソンアンドジョンソン、常盤薬品、アストラゼネカ、三菱ガス化学などの企業に就職、1 名はベンチャー企業の取締役としてその立ち上げに関わった。
- 受賞（計 7 名）  
育志賞、文部科学大臣表彰若手科学者賞、井上學術賞、井上研究奨励賞、東京大学総長賞などを受賞した。

## 11. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

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

総括班評価者からは、これまで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。本領域終了後の令和元年5月下旬に、本領域の研究成果等の資料を評価者に送付し、総合所見とコメントからなる事後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 3名（阿形・浅井・佐々木）

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 1名（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

**阿形 清和** 自然科学研究機構基礎生物学研究所・所長

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

本領域は、ポストゲノム時代の重要な課題である ncRNA の機能理解に向け、ncRNA 分子群の機能分類（タクソノミ）を目指すという挑戦的なものであった。5年間の成果として、本領域から 389 報もの論文が発表され、その中には国際的に注目される優れた成果が数多く含まれていた。具体的には、「arcRNA」という領域発のタクソンを確立したことが挙げられる。この成果は、領域内連携による集中的かつ多面的な ncRNA 研究によって実現したもので、本領域の掲げる最も重要なコンセプトを実現させた点が高く評価できる。またこの実現に向けた一連の研究展開は、今後の ncRNA 研究を方向づけるものと捉えることができる。この他にも RNA 化学修飾の包括的理解、piRNA 生合成の機構解明、CRISPR 装置の構造解析など、タクソノミの指標となる当該領域の先導的成果が期待以上に数多く生み出された。1分子解析系の開発によって新たな視点での ncRNA 研究が拓かれたことも特筆に値する。領域運営にあたっては、領域代表の自由な発想を重視する雰囲気の中で、多くの連携研究や融合研究が生まれ、国際交流を通してその成果は積極的に外部に発信された。発足時や中間評価の指摘にも的確に対応し、若手の育成活動によって多くの若手研究者がプロモーションするなど実質的成果を収めた点も評価に値する。

**浅井 潔** 東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授

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

研究領域の設定目的の達成度は、研究の最終的なゴールである RNA タクソノミの体系化までは至らなかったが、RNA タクソノミとしての arcRNA に関する理解が進み、詳細に位置付けることができた。また、それらを特徴付ける動作エレメントとしてキャップ構造や化学修飾に関する多くの知見が得られた。さらに、新技術開発では、超高解像度顕微鏡を共用機器として有効に活用し、従来の限界を超えた観測技術を実現した。これらの研究成果は多数の論文として発表され、大きな投資に見合う重要な研究成果が数多く得られたと評価できる。研究組織としては、公募研究を拡大して高レベル研究の裾野を広げることに成功した。一方、バイオインフォマティクス研究者の立場からは、この分野の研究者の参加は不十分で、最先端の研究とリアルタイムに連携したバイオインフォマティクス研究を展開する機会が十分に提供できなかった点は問題を残したと言える。

佐々木 裕之 九州大学生体防御医学研究所・教授

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

本領域は近年多彩な機能が注目を浴びているノンコーディング RNA (ncRNA) を対象として、機能を担う配列、構造、化学修飾などの作動エレメントを抽出し、その知見をもとに新分類体系を提示することを目指した。爆発的に拡大した ncRNA ワールドを整理して理解することは生物学上の重要な課題であり、時宜を得た新学術領域であったし、中堅・若手実力者が中心となった体制は効率よく機能した。特に領域代表者の廣瀬らが提唱する arcRNA 分類群が世界的に認められた成果は高く評価できる。泊、鈴木らによる小分子 RNA 生成・作動のメカニズム解明と RNA 修飾酵素の同定、西増らによるゲノム編集作動原理の解明も世界的に高く評価されている (いずれも Cell、Nature、Science 等の一流誌に掲載)。中間評価で遅れが指摘された生理機能解析についても領域の後半において多くの高品質の成果が生まれ、全体として本領域の当初の目的が達成された。これらに加え、相分離等の新たな視点による理解が進み、成果を応用して各分類群の新規 RNA を同定する手法が開発されたことから、期待以上の成果があったと評価したい。但し、これで新分類体系の全体像が確立した訳ではなく、今後も継続的な努力が必要であることは論を俟たない。共通設備として導入された超解像顕微鏡は中川らを中心に有効活用され (451 回使用!)、領域内共同研究は合計 106 件に登り、領域内共著論文が 35 報発表されたことから、チームを編成して新たな学術領域を作る本制度の趣旨は大いに実現された。また、様々な活動を通して若手育成が推進されたことも高く評価したい。

山本 正幸 東京大学・名誉教授／自然科学研究機構基礎生物学研究所・名誉教授

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

ノンコーディング RNA (ncRNA) は様々な生命現象で重要な働きをしていることが次々と明らかになってきており、その由来、構造、機能、作動様式などを解明することは生命の理解に不可欠となっている。本重点領域研究は、ひとまとめに ncRNA と呼ばれている RNA 分子種にクラス分けを施すことがノンコーディング RNA の全体像を正しく理解する上で極めて重要であるという考えの元に、ncRNA のもつ特徴的な配列、構造、化学修飾などの作動エレメントを明らかにして、それにより ncRNA の分類体系を打ち立てようとした挑戦的な研究提案であった。5 年の研究期間の領域運営については、大型機器の共同利用、研究における班員の連携体制の構築、若手研究者の育成、アウトリーチなどの領域活動に対して十分な配慮がなされており、特に、時に費用対効果が疑問視されるカラフルなサーキュラー誌の発行をせずに、情報発信および広報をウェブサイトを集約させた点は今後の一つの手本となるであろう。研究成果については、計画研究 A01、A03 を中心に、国際的に最先端を行く業績が挙げられている。ただし、その多くは、個別的な ncRNA についての興味深い新奇な発見であり、それらの集合が、ncRNA の新たな分類体系を打ち立てようとする領域の目標に対して期待以上に寄与したとまでは評価できない。意欲的な研究課題であるだけに、現時点は、後続の研究に対して道均しを成し遂げた段階と評価したい。