

---

「染色体オーケストレーションシステム」

---

領域番号: 3703

平成27年度～令和元年度  
科学研究費助成事業(科学研究費補助金)  
(新学術領域研究(研究領域提案型))  
研究成果報告書

令和5年6月

領域代表者 白髭 克彦  
東京大学・定量生命科学研究所・教授

## 1. はしがき

本領域では、染色体の3次元構造の再構築と4次元情報の取得を通じて、染色体機能の調和の仕組み(染色体オーケストレーションシステム:染色体OS)を理解することを目指した。本領域で得られた知見は染色体OS情報プラットフォームに集約、データベース化され、一般に公開しているが、エピゲノム、染色体分野のみならず創薬、臨床等、我が国の生命科学全般のさらなる発展に資することが期待できる。また、本分野で生化学的な取り組みにより構築されたモデル染色体も、現在のゲノム学一辺倒の染色体分野に一石を投じ、染色体構造の制御という難問を掘り下げ、生化学的に迫ることが可能な基盤を築いた。また、人材育成と情報発信も十分行った。

## 2. 研究組織

### (1) 総括班・総括班以外の計画研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者 ・分担者	研究者氏名	所属研究機関・部局・職
X00 総	15H05970 染色体オーケストレーションシステム	研究代表者	白髭 克彦	東京大学・定量生命科学研究所・教授
Y00 国	15K21761 染色体オーケストレーションシステム	研究代表者	白髭 克彦	東京大学・定量生命科学研究所・教授
		研究分担者	岩崎 博史	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授
		研究分担者	深川 竜郎	大阪大学・生命機能研究科・教授
		研究分担者	篠原 彰	大阪大学・たんぱく質研究所・教授
A01 計	15H05971 分裂期染色体の3D構築原理	研究代表者	平野 達也	国立研究開発法人理化学研究所・主任研究員
		研究分担者	大杉 美穂	東京大学・総合文化研究科・准教授

A01 計	15H05972 セントロメアを中心とした染色体構築原理	研究代表者	深川 竜郎	大阪大学・生命機能研究科・教授
A01 計	15H05973 染色体軸-ループ構造(染色体 3D 構造)に基づく減数分裂期の染色体機能の制御	研究代表者	篠原 彰	大阪大学・たんぱく質研究所・教授
A01 計	15H05974 DNA 二重鎖切断修復装置の 3D 作動原理	研究代表者	岩崎 博史	東京工業大学・科学技術創成研究院・教授
A01 計	15H05975 染色体 3D 構造の複製を基盤とした染色体動態の連携	研究代表者	荒木 弘之	国立遺伝学研究所 教授
A02 計	15H05976 分化過程の染色体 4D 情報	研究代表者	白髭 克彦	東京大学・定量生命科学研究所・教授
		研究分担者	岡田 由紀	東京大学定量生命科学研究所・教授
		研究分担者	永江 玄太	東京大学先端科学技術研究センター
A02 計	15H05977 染色体不安定性獲得過程の染色体4D情報	研究代表者	広田 亨	公益財団法人がん研究会がん研究所・実験病理部・部長
		研究分担者	石井 浩二郎	大阪大学大学院生命機能研究科・特任准教授
A02 計	15H05978 ウイルス感染に対する宿主染色体の 4D 応答機構	研究代表者	今井 由美子	国立研究開発法人医薬基盤研究所・プロジェクトリーダー
A02 計	15H05979 染色体高次構造情報の計算機的再構築および染色体構造と表現型の連関解析	研究代表者	伊藤 武彦	東京工業大学・生命理工学院・教授

		研究分担者	吉田 健一	京都大学・医学部・助教
計11件(廃止を含む)				

[1] 総:総括班、国:国際活動支援班、計:総括班以外の計画研究、公:公募研究

## (2) 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職
A01 公	16H01402 Piwi-piRNA によるエピゲノム制御機構の解明	佐藤 薫	東京大学・大学院理学系研究科・助教
A03 公	16H01403 ゲノム配列情報解釈のための染色体構造情報データベースの構築	中井 謙太	東京大学・医科学研究所・教授
A03 公	16H01404 Smc 複合体による DNA 高次構造解消反応の制御機構の解明	村山 泰斗	東京工業大学・生命理研・助教
A02 公	16H01405 染色体機能ドメイン制御の可塑性とその意義	竹林 慎一郎	三重大学・医学系研究科・講師
A02 公	16H01406 染色体融合による M 期停止機構の 4D 解析	林 眞理	京都大学・白眉センター・特定助教
A02 公	16H01407 遺伝子発現制御と高次ゲノム構造動態の関係解明	落合 博	広島大学・理学研究科・特任講師
A02 公	16H01408 分子修飾情報を実装した染色体数理モデルによるクロマチンドメイン内相互作用の研究	新海 創也	広島大学・理学系・助教 理化学研究所・生命システム研究センター・研究員 (2017.5～)
A01 公	16H01409 胚性幹細胞の機能を支える H3K9me2 染色体構造	立花 誠	徳島大学・先端酵素学研究所・教授

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者氏名	所属研究機関・部局・職
A01 公	16H01410 電子顕微鏡による染色体動態を担う超分子複合体の構築原理及び制御・遷移機構の研究	真柳 浩太	九州大学・生体防御医学研究所・助教
A01 公	16H01411 ゲノム反復配列の核内テーミング	山中 総一郎	慶應義塾大学・医学部・助教
A02 公	16H01412 多能性誘導過程におけるゲノム恒常性	坪内 知美	基礎生物学研究所・准教授
A01 公	16H01413 ストレスによる次世代でのテロメア短縮	石井 俊輔	国立研究開発法人理化学研究所・上席研究員
A01 公	16H01414 染色体機能形成の階層性とゲノム反復 DNA 上のクロマチン構造の解明	舛本 寛	公益財団法人かずさ DNA 研究所・室長
A03 公	18H04708 数理手法を用いた分裂期染色体ダイナミクスの解明	境 祐二	東京大学医学系研究科助教
A02 公	18H04709 DNA 二重鎖切断修復によるゲノム安定性維持機構の 4D 情報	佐々木 真理子	東京大学・定量生命科学研究所・助教
A03 公	18H04710 染色体構造データベースを利用した転写制御のモデリング	朴 聖俊	東京大学・医科学研究所・特任講師
A01 公	18H04711 一分子再構成系を用いた染色分体間接着マシナリーの理解	西山 朋子	名古屋大学大学院・理学研究科・准教授
A02 公	18H04712 染色体融合による M 期停止機構の 4D 解析	林 眞理	京都大学・白眉センター・特定助教
A02 公	18H04713 ヘテロクロマチンボディの構築原理の解明	小布施 力史	大阪大学・理学研究科・生物科学専攻

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者氏名	所属研究機関・部局・職
A02 公	18H04714 1細胞Hi-Cを用いた、G2期姉妹染色分体間の立体的関係の探索	永野 隆	大阪大学・蛋白質研究所・ 招聘教授
A01 公	18H04716 相同性依存的修復の品質管理機構を次世代シーケンス技術を用いて探る	高橋 達郎	九州大学 大学院理学研究院 准教授
A02 公	18H04717 Hi-C データを活用した疾患メカニズムの解釈	須山 幹太	九州大学・生体防御医学研究所・教授
A01 公	18H04718 機能的なクロマチンの再構成と高分解能3D構造・機能解析	胡桃坂 仁志	東京大学・定量生命科学研究所・教授
A02 公	18H04719 AID技術を利用したヒト染色体維持機構と染色体構造の関係性の解明	鐘巻 将人	国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授
A02 公	18H04720 染色体3次元構造理論の構築と応用：深層学習を援用した染色体4Dシミュレーション	新海 創也	理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員
A01 公	18H04721 染色体機能形成の階層性とゲノム反復DNA上のクロマチン構造の解明	舛本 寛	公益財団法人かずさDNA研究所・室長
A01 公	18H04722 クロマチンアクセシビリティの制御機構の解析	宮成 悠介	自然科学研究機構・生命創成探究センター・特任准教授

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

### 3. 交付決定額

年度	合計	直接経費	間接経費
平成27年度	340,730,000 円	262,100,000 円	78,630,000 円
平成28年度	309,140,000 円	237,800,000 円	71,340,000 円
平成29年度	301,860,000 円	232,200,000 円	71,580,000 円
平成30年度	308,620,000 円	237,400,000 円	71,220,000 円
令和元年度	306,670,000 円	235,900,000 円	70,770,000 円
合計	1,567,020,000 円	1,205,400,000 円	361,620,000 円

## 4. 研究発表

### A01 計画研究(平野、深川、篠原、岩崎、荒木)

雑誌論文数 101 報(うち査読あり国際誌 96 報)

国際学会における招待・基調講演数 56 件

#### 【主な論文】

1. Ito K, Murayama Y, Kurokawa Y, Kanamaru S, Kokabu Y, Maki T, Argunhan B, Tsubouchi H, Ikeguchi M, Takahashi M, \*Iwasaki H. Real-time tracking reveals catalytic roles for the two DNA binding sites of Rad51. *Nat Commun.* 2020 DOI : 10.1038/s41467-020-16750-3 .
2. Argunhan B, Sakakura M, Negar Afshar N, Kurihara M, Ito K, Maki T, Kanamaru S, Murayama Y, Tsubouchi H, Takahashi M, \*Takahashi H and \*Iwasaki H. Cooperative interactions facilitate stimulation of Rad51 by the Swi5- Sfr1 auxiliary factor complex. *eLife* 2020 Mar 24;9:e52566. doi: 10.7554/eLife.52566. (\*shared corresponding authors)
3. Watanabe R, Hara M, Okumura EI, Herve, Fachinetti D, Ariyoshi M, \*Fukagawa T. CDK1-mediated CENP-C phosphorylation modulates CENP-A binding and mitotic kinetochore localization. *J Cell Biol* (2019) 218: 4042- 4062.
4. Hara M, \*Fukagawa T. Centromere maintenance during DNA replication. *Nature Cell Biol* (2019) 21: 669-671.
5. Matsuzaki, K\*, Kondo, S., Ishikawa, T., \*Shinohara A., Human RAD51 paralogue, SWSAP1, fosters RAD51 filament by regulating the anti-recombinase, FIGNL1 AAA+ ATPase. *Nature Communications*, 10, 1407. 2019, doi: 10.1038/s41467-019-09190-1
6. Challa, K., Fajish G.V., Shinohara, M., Klein, F., Susan M. Gasser, S.M., \*Shinohara. A. Meiosis-specific prophase-like pathway controls cleavage-independent release of cohesin by Wapl phosphorylation. *PLoS Genetics*, 15, e1007851. 2019. doi: 10.1371/journal.pgen.1007851.
7. Hizume, K, \*Araki, H. Replication fork pausing at protein barriers on chromosomes. *FEBS Lett.* 593(13), 1449 - 1458, 2019
8. Shintomi K, \*Hirano T. Reconstitution of mitotic chromatids in vitro. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 2018 e48. doi:10.1002/cpcb.48.
9. Murayama Y, Takahashi M, \*Iwasaki H. Two three-strand intermediates are processed during Rad51-driven DNA strand exchange. Ito K, *Nature Struct Mole Biol* 2018 Jan;25(1):29-36. doi: 10.1038/s41594-017-0002-8.
10. Hara M, Ariyoshi M, Okumura EI, Hori T, \*Fukagawa T. Multiple phosphorylations control recruitment of the KMN network onto kinetochores. *Nature Cell Biol* (2018) 20:



1378–1388.

11. Soeda S, Yamada–Nomoto K, Michiue T, \*Ohsugi M. RSK–MASTL pathway delays meiotic exit in mouse zygotes to ensure paternal chromosome stability. *Dev. Cell* 2018 47: 363–37.
12. Hizume, K, Endo, S, Muramatsu, S, Kobayashi, T, \*Araki, H DNA polymerase  $\epsilon$ -dependent modulation of the pausing property of CMG helicase at the barrier. *Genes & Dev.* 32, 1315 - 1320, 2018
13. Ono T, Sakamoto C, Nakao M, Saitoh N, \*Hirano T. Condensin II plays an essential role in reversible assembly of mitotic chromosomes in situ. *Mol. Biol. Cell.* 2017 28:2875–2886.
14. \*Hirano T. Capturing condensin in chromosomes. *Nat. Genet.* 2017 49:1419–1420.
15. Shintomi K, Inoue F, Watanabe H, Ohsumi K, Ohsugi M, \*Hirano T. Mitotic chromosome assembly despite nucleosome depletion in *Xenopus* egg extracts. *Science.* 2017 356:1284–1287 (highlighted in Perspectives).
16. Shintomi K, \*Hirano T. A sister chromatid cohesion assay using *Xenopus* egg extracts. *Methods Mol. Biol.* 2017 1515:23– 35.
17. Hori T, Shang WH, Hara M, Ariyoshi M, Arimura Y, Fujita R, Kurumizaka H, \*Fukagawa T. Association of M18BP1/KNL2 with CENP–A Nucleosome Is Essential for Centromere Formation in Non– mammalian Vertebrates. *Dev Cell* (2017) 42: 181–189.e3
18. Hori T, Kagawa N, Toyoda A, Fujiyama A, Misu S, Monma N, Makino F, Ikeo K, \*Fukagawa T. Constitutive centromere– associated network controls centromere drift in vertebrate cells. *J Cell Biol* (2017) 216: 101–113
19. \*Hirano T. Condensin–based chromosome organization from bacteria to vertebrates. *Cell.* 2016 164:847–857 (selected as a Featured Article).
20. Challa, KK., Lee, MS., Shinohara, M., Kim, K.M, Shinohara A\*. Rad61/Wpl1(Wapl), a cohesin regulator, controls chromosome compaction during meiosis. *Nuclei. Acids Res.* 44, 3190–3203. 2016. doi: 10.1093/nar/gkw034.
21. Shintomi K, Takahashi TS, \*Hirano T. Reconstitution of mitotic chromatids with a minimum set of purified factors. *Nat.Cell Biol.* 2015 17:1014–1023 (highlighted in News and Views).
22. Shang WH, Hori T, Westhorpe FG, Godek KM, Toyoda A, Misu S, Monma N, Ikeo K, Carroll CW, Takami Y, Fujiyama A, Kimura H, Straight AF, \*Fukagawa T. Acetylation of histone H4 lysine 5 and 12 is required for CENP–A deposition into centromeres. *Nature Commun* (2016) 7: 13465
23. Shinohara, M., Hayashihara, K., Grubb, J.T., Bishop, D.K., and \*Shinohara A. DNA damage response clamp contributes to chromosomal assembly of ZMM–SIC pro–crossover

factors during meiosis. *J. Cell. Sci.* 128, 1494–1506, 2015. doi: 10.1242/jcs.161554.

### **【主な国際学会発表】**

#### **Tatsuya Hirano**

1. Condensin-based chromosome organization: new insights from in vitro assays (Sumposium speaker), ASCB | EMBO 2019 meeting (December 9, 2019, Washington DC, USA)
2. Assembling mitotic chromosomes in vitro (Plenary lecturer), The 11th 3R&3C Symposium (November 12, 2018, Kanazawa, Japan)
3. Condensins and chromosome organization, "Mitosis and Cell Organization", Harvard Medical School (July 21, 2018, Boston, Massachusetts, USA)
4. Condensin-based chromosome organization (Keynote speaker), Gordon Research Conference on "Chromosome Dynamics" (May 21, 2017, Lucca, Italy)
5. Condensin-based chromosome organization (Keynote speaker), Keystone Symposium on "Genomic Instability and DNA Repair/DNA Replication and Recombination" (April 3, 2017, Santa Fe, New Mexico, USA)

#### **Tatsuo Fukagawa**

1. Centromere Dynamics During Mitotic progression, Gordon Research Conference on Centromere Biology (August, 2018, VT, USA)
2. Epigenetic regulation for kinetochore assembly in vertebrate cells, EMBO workshop on kinetochore dynamics (June, 2017, Edinburgh, UK)
3. Specific features of centromeric chromatin, FASEB Science Research Conference: Mitosis: Spindle Assembly and Function (June, 2015, MT, USA)

#### **Akira Shinohara**

1. EMBO workshop on meiosis, August 25–30, 2019. La Rochelle, France. Human RAD51 paralog, SWSAP1, promotes RAD51 assembly by regulating the anti-recombinase, FIGNL1 AAA+ ATPase.
2. FASEB meeting on recombination & genome rearrangement, Steamboat, USA, July 14–19, 2019. Human RAD51 paralog, SWSAP1, promotes RAD51 assembly by regulating the anti-recombinase, FIGNL1 AAA+ ATPase.
3. Gordon Research Conference on Meiosis, June 10–15, 2018, New London, USA. Meiotic prophase pathway of cleavage-independent removal of cohesin from chromosomes during late prophase I
4. FASEB meeting on recombination & genome rearrangement, Steamboat, USA, July 16–22, 2017. Control of RAD51 filament assembly/disassembly by the RAD51 paralog and anti-recombinase.
5. Gordon Research Conference on Meiosis, June 3–8, 2016, New London, USA. Meiotic

prophase pathway of cleavage- independent removal of cohesin from chromosomes during late prophase I.

6. Chromosome stability meeting, December 13–18, Thiruvandrum, India, 2016. Meiotic prophase pathway of cleavage- independent removal of cohesin from chromosomes during late prophase I.
7. EMBO workshop on meiosis, September 1–15, Oxford UK 2015. A. Shinohara. Meiotic prophase pathway of cleavage- independent removal of cohesin from chromosomes during late prophase I.

#### **Hiroshi Iwasaki**

1. Activation of Mre11 endonuclease by Ctp1 in *Schizosaccharomyces pombe*, EMBO Workshop on Fission Yeast, The 10<sup>th</sup> International Meeting (July 14–19, 2019 Barcelona, Spain)
2. Swi5-Sfr1 stimulates Rad51 recombinase filament assembly by modulating Rad51 dissociation. The 11th 3R+3C Symposium (NOVEMBER 12–16 2018 Kanazawa Japan)

#### **Hiroyuki Araki**

1. Formation and progression of replication forks in budding yeast; replication fork pausing at the barriers. The 44th FEBS Congress, Krakow (July 8, 2019, Poland) (invited),
2. Bidirectional initiation of chromosomal DNA replication in budding yeast. The 2016 Cold Spring Harbor Asia Conference: DNA metabolism, genomic stability and diseases, Suzhou (June 13, 2016, China) (invited)

#### **A01 公募研究(通期:舛本、I期:立花、石井、山中、舛本、佐藤、真柳、II期:高橋、宮成、西山、胡桃坂)**

雑誌論文数      41 報(うち査読あり国際誌      38 報)

#### **【主な論文】**

1. Yoshida K, Maekawa T, Ly NH, Fujita S, Muratani M, Ando M, Katou Y, Araki H, Miura F, Shirahige K, Okada M, Ito T, Chatton B, \*Ishii S. ATF7-dependent epigenetic change is required for intergenerational effect of paternal low-protein diet. *Mol Cell*. 2020 May 7;78(3):445–458.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2020.02.028
2. Yamanaka S, Nishihara H, Toh H, Eijy Nagai LA, Hashimoto K, Park SJ, Shibuya A, Suzuki AM, Tanaka Y, \*Nakai K., Carninci P., Sasaki H., \*Siomi H., Broad Heterochromatic Domains Open in Gonocyte Development Prior to De Novo DNA Methylation. *Dev Cell*. 2019 Oct 7;51(1):21–34.e5. doi: 10.1016/j.devcel.2019.07.023.
3. Yoshida K, Muratani M, Araki H, Miura F, Suzuki T, Dohmae N, Katou Y, Shirahige K, Ito T, \*Ishii S Mapping of histone-binding sites in histone replacement-completed

- spermatozoa. *Nat Commun.* 2018 Sep 24;9(1):3885. doi: 10.1038/s41467-018-06243-9
4. Terui R, Nagao K, Kawasoe Y, Taki K, Higashi TL, Tanaka S, Nakagawa T, Obuse C, Masukata H, \*Takahashi TS. Nucleosomes around a mismatched base pair are excluded via an Msh2-dependent reaction with the aid of SNF2 family ATPase Smarcd1. *Genes Dev.* 2018 Jun 1;32(11-12):806-821. doi: 10.1101/gad.310995.117.
  5. Ohzeki J, Shono N, Otake K, Martins NMC, Kugou K, Kimura H, Nagase T, Larionov V, Earnshaw WC, \*Masumoto H. KAT7/HBO1/MYST2 regulates CENP-A chromatin assembly by antagonizing Suv39h1-mediated centromere inactivation. *Developmental Cell*, Jun 6;37(5): 413-427. (2016) Doi: 10.1016/j.devcel.2016.05.006

#### A02 計画研究(白髭、広田、今井、伊藤)

雑誌論文数            124 報(うち査読あり国際誌        118 報)  
 国際学会における招待・基調講演数        57 件

#### 【主な論文】

1. Fujiwara S, Hoshizaki M, Ichida Y, Lex D, Kuroda E, Ishii KJ, Magi S, Okada M, Takao H, Gandou M, Imai H, Hara R, Herzog H, Yoshimura A, Okamura H, Penninger JM, Slutsky AS, Uhlig S, Kuba K, \*Imai Y. Pulmonary phagocyte-derived NPY controls the pathology of severe influenza virus infection. *Nat Microbiol.* 2019 Feb;4(2):258-268. doi: 10.1038/s41564-018-0289-1. Epub 2018 Nov 19
2. Yoshimura D, Kajitani R, Gotoh Y, Katahira K, Okuno M, Ogura Y, Hayashi T, \*Itoh T. Evaluation of SNP calling methods for closely related bacterial isolates and a novel high-accuracy pipeline: BactSNP. *Microb Genom.* 2019 May;5(5):e000261. doi: 10.1099/mgen.0.000261.
3. Kajitani R, Yoshimura D, Okuno M, Minakuchi Y, Kagoshima H, Fujiyama A, Kubokawa K, Kohara Y, Toyoda A, \*Itoh T. Platanus-allee is a de novo haplotype assembler enabling a comprehensive access to divergent heterozygous regions. *Nat Commun.* 2019 Apr 12;10(1):1702. doi: 10.1038/s41467-019-09575-2.
4. Nishimura K, Komiya M, Hori T, Itoh T, \*Fukagawa T. 3D genomic architecture reveals that neocentromeres associate with heterochromatin regions. *J Cell Biol.* 2019 Jan 7;218(1):134-149. doi: 10.1083/jcb.201805003.
6. Minamino M, Tei S, Negishi L, Kanemaki MT, Yoshimura A, Sutani T, \*Bando M, \*Shirahige K. Temporal Regulation of ESCO2 Degradation by the MCM Complex, the CUL4-DDB1-VPRBP Complex, and the Anaphase-Promoting Complex. *Curr Biol.* 2018 Aug 20;28(16):2665-2672.e5. doi: 10.1016/j.cub.2018.06.037. Epub 2018 Aug 9. PMID: 30100344.

7. Yamaguchi K, Hada M, Fukuda Y, Inoue E, Makino Y, Katou Y, Shirahige K, \*Okada Y. Re-evaluating the Localization of Sperm-Retained Histones Revealed the Modification-Dependent Accumulation in Specific Genome Regions. *Cell Rep.* 2018 Jun 26;23(13):3920–3932. doi: 10.1016/j.celrep.2018.05.094. PMID: 29949774.
8. Konishi M, Shindo N, Komiya M, Tanaka K, Itoh T, \*Hirota T. Quantitative analyses of the metaphase-to-anaphase transition reveal differential kinetic regulation for securin and cyclin B1. *Biomed Res.* 2018;39(2):75–85. doi: 10.2220/biomedres.39.75.
10. Fujita Y, Masuda K, Bando M, Nakato R, Katou Y, Tanaka T, Nakayama M, Takao K, Miyakawa T, Tanaka T, Ago Y, Hashimoto H, \*Shirahige K, \*Yamashita T Decreased cohesin in the brain leads to defective synapse development and anxiety-related behavior. *J Exp Med.* 2017 May 1;214(5):1431–1452. doi: 10.1084/jem.20161517
11. Takahashi, M., Wakai, T., and \*Hirota, T. (2016) Condensin I-mediated mitotic chromosome assembly requires association with chromokinesin KIF4A. *Genes Dev.* 30: 1931–1936. doi: 10.1101/gad.282855.116.
12. Nagasaka, K., Hossain, JM., Roberti, JM., \*Ellenberg, J., and \*Hirota, T. (2016) Sister chromatid resolution is an intrinsic part of chromosome organization in prophase. *Nat Cell Biol.* 18: 692–699. doi: 10.1038/ncb3353.
13. Abe, Y., Sako, K., Takagaki, K., Hirayama, Y., Uchida, KSK., Herman, J., DeLuca, JG., and \*Hirota, T. (2016) HP1- assisted Aurora B kinase activity prevents chromosome segregation errors. *Dev. Cell.* 36: 487–497. doi: 10.1016/j.devcel.2016.02.008
14. Okuno M, Kajitani R, Ryusui R, Morimoto H, Kodama Y, \*Itoh T. Next-generation sequencing analysis of lager brewing yeast strains reveals the evolutionary history of interspecies hybridization. *DNA Res.* 2016 Feb;23(1):67–80. doi: 10.1093/dnares/dsv037.
15. \*Sutani T, Sakata T, Nakato R, Masuda K, Ishibashi M, Yamashita D, Suzuki Y, Hirano T, Bando M, \*Shirahige K. Condensin targets and reduces unwound DNA structures associated with transcription in mitotic chromosome condensation. *Nat Commun.* 2015 Jul 23;6:7815. doi: 10.1038/ncomms8815. PMID: 26204128; PMCID:PMC4525155.
16. Minamino M, Ishibashi M, Nakato R, Akiyama K, Tanaka H, Kato Y, Negishi L, Hirota T, Sutani T, \*Bando M, \*Shirahige K. Esco1 Acetylates Cohesin via a Mechanism Different from That of Esco2. *Curr Biol.* 2015 Jun 29;25(13):1694–706. doi: 10.1016/j.cub.2015.05.017. Epub 2015 Jun 4. PMID: 2605189

### 【主な国際学会発表】

#### Katsuhiko Shirahige

1. Katsuhiko Shirahige “Regulation of Transcription by Cohesin and its loader”. EMBO

Workshop on Organization of bacterial and eukaryotic genomes by SMC complexes. Vienna, Austria, 2019.9.9– 9.13.

2. Katsuhiko Shirahige “Regulation of Transcription by Cohesin and its loader”. EMBO Workshop “Principles of Chromosome Structure and Function” Heidelberg Germany 2018.9.4
3. Toyonori Sakata and Katsuhiko Shirahige “Organization of 3D genome structure mediated by cohesin and CTCF”. EMBO Workshop “Evolution in the Time of Genome Architecture”. Naples Italy.  
4. 2017.9.15–9.17
5. Toyonori Sakata and Katsuhiko Shirahige “Analysis of human chromosome organization mediated by cohesin complex”. Genetic Networks (GN) Workshop. Toronto, Canada, 2017.4.26
6. Katsuhiko Shirahige “Transcriptional regulation by Cohesin and its loader”. International conference of the Korean Society for molecular and cellular biology. Seoul (South Korea)2015.9.17

#### **Toru Hirota**

1. Motoko Takahashi and Toru Hirota “Single stranded DNA in interphase is a key chromatin structure for mitotic chromosome organization”. 3R+3C Symposium. Kanazawa, 2018.11.12–16.
2. Yuko Ohno, Haruka Tsutsui, Kei Kawakami, Natsuki Mizuno, Yoshino Kubota, and Kojiro Ishii “Perinuclear chromatin partitioning permits restricted centromere propagation.” EMBO Workshop: The 5th Dynamic Kinetochore Workshop, Edinburgh (UK), 2017.06.6–9
3. Toru Hirota “Kinetic control of the M/A transition in failsafe mitosis” SKKU International Symposium on Biomedical Science, Suwon Korea, 2016.10.
4. Kojiro Ishii “A role for pericentric heterochromatin in the neocentromere-mediated meiosis.” Gordon Research Conference: Centromere Biology, Mt. Snow (USA), 2016.07.24–29
5. Toru Hirota “Dynamic deformation of kinetochores controls mitotic progression” The 4th Dynamic Kinetochore Workshop, Copenhagen (Denmark) 2015.05.18–22.
6. Yuki Ogiyama, Haruhiko Asakawa, Yasushi Hiraoka, and Kojiro Ishii “Meiotic behaviors of neocentromeres.” EMBO Workshop: The 4th Dynamic Kinetochore Workshop, Copenhagen (Denmark), 2015.05.18–21

#### **Yumiko Imai**

1. Yumiko Imai “Dynamic changes in host nuclear system to influenza virus infection”, JMCB Symposium 2018: Looking into Complex Diseases (JUNE 9, 2018, Shanghai, China)

2. Yumiko Imai “Dynamic nuclear interactions between influenza virus and its host”, 12th World Congress of the Intensive Critical Care Medicine (WFSICCM) (2015, Seoul, Korea)
3. Yumiko Imai “Potential of anti influenza drug development targeting host nuclear network.” 4th Hsien Wu and Ray Wu Symposia (August , 2015, Beijing, China)

#### Ayana Kon

1. Kon A, “STAG2 mutations alter epigenetic and transcriptional dynamics in myeloid neoplasms”, Meeting of Leukemic and Hematopoietic Stem Cells in Tokyo, Jan 29, 2019.

#### A02 公募研究(通期:林、新海、I期:竹林、坪内、落合、新海、II 期:永野、佐々木、小布施、鐘巻、須山)

雑誌論文数 50 報(うち査読あり国際誌 43 報)

#### 【主な論文】

1. Miura H, Takahashi S, Shibata T, Nagao K, Obuse C, Okumura K, Ogata M, \*Hiratani I, \*Takebayashi SI. Mapping replication timing domains genome wide in single mammalian cells with single-cell DNA replication sequencing (scRepli-seq). Nat. Protoc. (accepted).
2. \*Ochiai H, Hayashi T, Umeda M, Yoshimura M, Harada A, Shimizu Y, Nakano K, Saitoh N, Liu Z, Yamamoto T, Okamura T, Ohkawa Y, Kimura H, \*Nikaido I. Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. Sci Adv, in press.
3. \*Shinkai S., Nakagawa M., Sugawara T., Togashi Y., Ochiai H., Nakato R., Taniguchi Y., \*Onami S. PHi-C: deciphering Hi-C data into polymer dynamics. NAR Genomics and Bioinformatics 2(2) lqaa020 (2020).
4. Takahashi S, Miura H, Shibata T, Nagao K, Okumura K, Ogata M, Obuse C, \*Takebayashi SI, and \*Hiratani I. Genome- wide Stability of the DNA Replication Program in Single Mammalian Cells. Nat. Genet. 51: 529-540, 2019. doi: 10.1038/s41588-019-0347-5.
5. Yesbolatova A, Natsume T, Hayashi K, \*Kanemaki MT. Generation of conditional auxin-inducible degron (AID) cells and tight control of degron-fused proteins using the degradation inhibitor auxinole. Methods, 164-165, 73-78, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2019.04.010>

#### A03 公募研究(I期:中井、村山、II 期:境、朴)

雑誌論文数 10 報(うち査読あり国際誌 8 報)

#### 【主な論文】

1. \*Sakai Y, Hirano T, Tachikawa M. Molecular dynamics simulations of condensin-mediated

- mitotic chromosome assembly. *Methods Mol Biol.* 2019; 2004: 319-334. doi: 10.1007/978-1-4939-9520-2\_22.
2. Sakai Y, Mochizuki A, Kinoshita K, Hirano T, Tachikawa M. Modeling the functions of condensin in chromosome shaping and segregation. *PLoS Comput Biol.* 2018 Jun; 14(6): e1006152. doi: 10.1371/journal.pcbi.1006152.
  3. Lee J. H., Park S.J.,\*Nakai K. Differential landscape of non-CpG methylation in embryonic stem cells and neurons caused by DNMT3s, *Scientific Reports* (7):11295, 2017. doi:10.1038/s41598-017-11800-1

### ○主催シンポジウム

1. Chromosome Dynamics 2019, Dec 8-10, 2019, Basel, Switzerland
2. The 8th Meeting on Grant-IN-AID FOR Scientific research on Innovative areas "Chromosome Orchestration system (Chromosome OS)" Jan 28-29, 2019, Nanyo, Yamagata, Japan
3. Chromosome OS meeting at KI Sweden 2018, May 30- Jun 2, 2018, Karolinska, Sweden
4. The 11th 3R3C Symposium, 2018年11月12-16日, 石川県金沢市
5. Meeting on Grant-IN-AID FOR Scientific research on Innovative areas "Chromosome Orchestration system(Chromosome OS)" 2017年9月28-29日, 大阪府箕面市
6. SMC proteins chromosomal organizers from bacteria to human, Jun 13-16, Nanyo, Yamagata, Japan
7. The 4th Meeting on Grant-IN-AID FOR Scientific research on Innovative areas "Chromosome Orchestration system(Chromosome OS)", Feb 20-21, 2017, London, UK
8. International Symposium on "Chromosome Orchestration System", Mar 1-3, 2016, Awaji, Hyogo

### ○共催シンポジウム

1. The 37th Chromosome Workshop and the 18th Nuclear Dynamics Meeting, Dec. 22-24, 2019, Niigata, Japan.
2. 第25回DNA複製・組換え・修復ワークショップ, 2019年11月9-11日, 奈良県奈良市
3. 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会, 2019年6月24-26日, 兵庫県神戸市 International Symposium for Female Researchers in Chromatin Biology, June 23, 2019, Kobe, Japan
4. 第13回日本エピジェネティクス研究会年会, 2019年5月28-29日、神奈川県横浜市
5. The Eukaryotic Genome in 4 Dimensions: Integrative Approaches to Bridging Genotype and Phenotype, August 4-9, 2019, Hong Kong
6. The 36th Chromosome Workshop and the 17th Nuclear Dynamics meeting, Jan 23-25,



2019, Takarazuka, Hyogo, Japan

7. 第 12 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2018 年 5 月 24-25 日、北海道札幌市
8. 第 35 回 染色体ワークショップ・第 16 回 核ダイナミクス研究会, 2017 年 12 月 20-22 日, 愛知県西尾市
9. DNA 複製・組換え・修復 WS, 2017 年 11 月 27-28 日, 岐阜県岐阜市 第 69 回日本細胞生物学会大会, 2017 年 6 月 13 日から 15 日, 宮城県仙台市
10. 第 11 回日本エピジェネティクス年会, 2017 年 5 月 21-23 日, 東京都千代田区
11. 第34回染色体ワークショップ・第15回核ダイナミクス研究会, 2017 年 1 月 11-13 日, 千葉県木更津市
12. The 10th 3R Symposium, Nov 11-17, 2016, 島根県松江市
13. 第 68 回日本細胞生物学会大会, 2016 年 6 月 15 日, 京都府京都市
14. 第 33 回染色体ワークショップ・第 14 回核ダイナミクス研究会, 2016 年 1 月 12-14 日 宮城県松島町
15. 第 23 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ 2015 年 10 月 19-21 日 静岡県焼津市

#### ○受賞等

1. 平野(計画班):2019 年朝日賞
2. 舩本(公募班):Daiwa Adrian Prize 2016 by The Daiwa Anglo-Japanese Foundation(受賞チームの 1 人)
3. 村山(公募班):平成 29 年日本遺伝学会奨励賞、平成 30 年文部化学大臣表彰若手科学賞
4. 佐々木(公募班):Gordon Research Conference Genomic Instability 2018 Best Poster 賞、令和元年日本遺伝学会奨励賞
5. 朴(公募班):The 17th International Conference on Bioinformatics (InCob 2018), Best oral presentation award
6. 林(公募班):第71回日本細胞生物学会の若手優秀発表賞

## 5. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

産業財産権の名称 遺伝性乳癌卵巣癌症候群の治療薬のスクリーニング方法	発明者 岩崎博史、坪内英生、伊藤武彦、梶谷嶺、リハッティ	権利者 国立大学法人東京工業大学
産業財産権の種類、番号 特許、2018-77857	出願年 2018年	国内・外国の別国内

産業財産権の名称 微生物由来カルボキシペプチダーゼの高血圧改善、心不全改善、急性呼吸窮迫症候群改善作用	発明者 今井由美子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-165890	出願年 2018年	国内・外国の別国内

産業財産権の名称 神経ペプチドNPYとその受容体の抗インフルエンザ作用	発明者 今井由美子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-211311	出願年 2018年	国内・外国の別国内

産業財産権の名称 遺伝性乳癌卵巣癌症候群の治療薬のスクリーニング方法	発明者 岩崎、伊藤	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-77857	出願年 2017年	国内・外国の別国内

## 6. 研究成果

### (1) 本研究領域の目的および構想

染色体は生命の本質であり、遺伝子転写、複製、組換え、修復、分配、エピゲノム修飾、などの各種機能を通じて生命維持活動に密接に関与している。個々の染色体機能に関する研究では我が国は世界をリードしてきたが、染色体が関与する一連の生命現象を総合的に理解するためには、既存の個別研究では不十分であり、個々の機能的連携を前提としたひとつの機能体、いわゆる「巨大染色体装置」として理解し研究を進めることが必須である(図1)。

実際、染色体構造とそれに付随する機能は想像以上の可塑性に富み、生命現象に対して従来のゲノム研究の対象である塩基レベルの変化に匹敵する程の大きな影響を有することが明らかになりつつある。そこで本新学術領域では、染色体の構造と機能について、その諸機能の連携と階層性を徹底的に洗い直し、機能統合体として働く仕組み(染色体オーケストレーションシステム:染色体OS)を理解することを目的とする。具体的には、3D構築班、4D情報班の2つの班を設定し研究を展開する。3D構築班では、染色体の諸機能を担う分子装置を主として試験管内で3次元再構成するアプローチを通じ、染色体という巨大な構造体の可塑性とそこで展開される諸機能の連携を包括的に理解する。一方4D情報班では、こうした染色体3次元構造が種々の動的過程(細胞周期、減数分裂、分化、ストレス応答、病態形成)の時間軸に沿ってどのように変換されるか、つまり4次元情報を俯瞰的視点から検討し、ゲノムの構造変化が生命機能に必要な情報へと転換される動態を解明する。この2つの班が密接かつ相互補完的に融合することで、染色体OSという、従来の染色体生物学を超えた新たな概念を提案できる(図2)。我が国の染色体研究は、岡崎令治による不連続DNA複製機構の発見や柳田充弘による染色体分配機構の解析を初めとして赫奕たる歴史をもち、現在でもその裾野の広さと高い水準は世界的に認められている。本領域では、参加者全員が高い問題意識を共有し、研究レベルの更なる向上と新たな展開を期して集合した。本領域の実施に

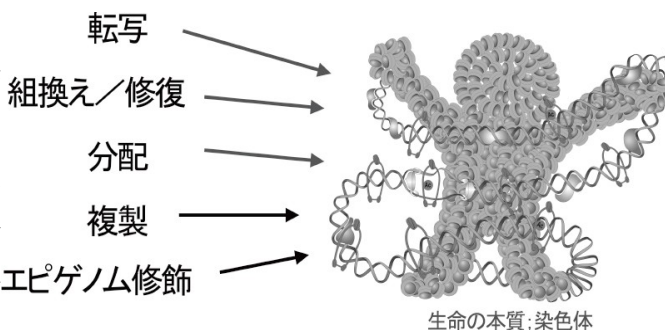


図1 従来バラバラに扱われてきた染色体機能の連携と統合を理解する。

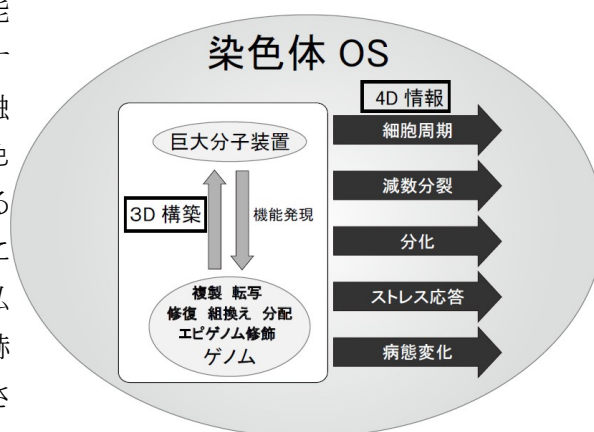


図2 染色体の3D構築とその時間軸での変換(4D情報)を解き明かし、染色体OSの分子基盤を明らかにする。

においては、これまで独自に研究成果を上げてきた、生化学、遺伝学、細胞生物学、ゲノム科学、情報工学、感染症学、獣医学、病理学といった異なる背景を持つ研究者が、新たな突破口を求めべく連携し、共同研究を行う。領域の実施により、染色体OSの分子実態が明らかとなり、新たな視点と方法論を提供することで各種疾病の分子病態や発生・分化プログラムも含めた、あらゆる生命現象の本質的な理解に資することが可能となる。また、このような複合的な視点を有する新しい領域の研究に取り組む人材を育成する。以上のことから、本領域は「当該領域の格段の発展・飛躍的な展開を目指すものである」と言える。染色体の動的可塑性はあらゆる生命現象の根幹にあることから、それを解明することは生命そのものの本質的理解へと直結する。海外では早くからマイクロアレイや次世代シーケンサー(NGS)の普及により、全体像を俯瞰するという視点での染色体研究が行われてきた。特に、分化と転写制御という観点から Harvard、MITのBernstein、Youngに代表される研究室より ES 細胞や初期胚を用いたエピゲノム修飾についての論文は多数発表されている。また、Jackson LaboratoryのRuanによる ChIA-PET法(特定のタンパクの作る三次元構造を解析する技術)、UMASSのDekker、Lander、Babraham InstituteのFraserらによる5C法やHi-C法に代表される染色体3次元構造をNGSにより解き明かそうとする動きも海外では活発である。一方、我が国では、論文の数や質から見ても、染色体研究にポストシーケンス技術が生かされている研究は多くはない。そのような状況下においてながら領域代表者等は早くから独自の技術情報基盤を整備し、染色体構造研究を展開してきた。今回、申請者等が一丸となって提案する、再構成系とゲノム構造学的手法を連動し、染色体の動的可塑性に焦点を当てるといった研究は国際的にも例はない。まさに、新学術領域という枠組みにおいてはじめて遂行可能となる課題である。当該分野での我が国の国際的優位性を堅持し、さらなる発展を図るためにも本領域の採択が望まれる。

## (2) 研究期間終了後に期待される成果等

第一に、本領域によって構築される「染色体OS情報プラットフォーム(各動的過程における染色体動態のデータベースとその動態を体系的に注釈、可視化するツール)」の公開により染色体OSの分子基盤が明らかになる。その結果、染色体諸機能の破綻によって引き起こされる疾病の病態の本質的な理解に貢献できる。現在、我が国では再生医療とその産業化が急速に進展しているが、分化プログラムにおける染色体構造の変換や分化組織における染色体構造についての知見は極めて限られている。また、核内の染色体配置やレプリコン構成の変化といった巨大な構造変換を考慮した場合、分化、未分化状態を定義するものがエピゲノム情報だけでは不十分である可能性が指摘されている。同様のことは、がんの発生・進展におけるゲノム不安定性の増大過程にも当てはまる。このように、本領域は、種々の細胞の多様性を染色体の構造として定義し直す契機となり、基礎生物学のみならず、再生医療、疾病予測、創薬等、応用科学分野に対して大きな波及効果をもたらすことが期待される。また、本プラットフォームは今後の我が国の教育、研究振興のための知的財産になる。

第二に、本領域の研究基盤として活用する複数の機能を再構成したモデル染色体は、更

なる改良を経て将来的には、疾患治療、育種改良に応用できる可能性が期待される。第三に世界的に不足している「実験生物学と情報学の両方に長けた研究者」の育成が可能となる。この問題は今後の日本のライフサイエンス研究の振興にとって喫緊の課題である。領域代表者は一貫して染色体の全体像からの解析にこだわり、そのための技術開発を通じて常に質の高い研究成果を挙げてきた。これまでの研究成果を基盤として、さらに飛躍的に発展させるべく本申請に参画する研究者らと議論を重ね、染色体OSという概念を醸成してきた。本提案は、これまで蓄積したノウハウを結集し、個々の染色体機能装置の作用機序を3次元構造レベルで統合するための研究と、染色体の4次元情報を解明する研究を密接な連携のもとに展開するという、極めて野心的なものである。染色体OSの理解は、生命現象を新たに染色体の構造として定義し直す契機となり、生命科学研究全般の格段のレベルアップに繋がると確信する。

### (3) 領域設定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

本研究では、染色体の3次元構造の再構築と4次元情報の取得を通じて、染色体機能の調和の仕組み(染色体オーケストレーションシステム:染色体OS)を理解することを目指した。そのため、染色体の構造と機能について、その諸機能の連携と階層性を徹底的に洗い直して統合的な新しい染色体構築原理を理解することを目的とした。効率的な運営のため、2つの班、「A01:3D構築班」と「A02:4D 情報班」を設定し、2つの班が有機的に連携できる仕組みとして、総括班の支援のもとに共通の研究基盤「染色体OS情報プラットフォーム(様々な動的過程における染色体動態のデータベースとその動態を体系的に注釈、可視化し、共同研究を促進するツール)」と「モデル染色体」(二つ以上の染色体機能の連携を生化学的、細胞生物学的に理解するための再構築系)を開発し利用した。研究開始時に領域としての「研究項目」を設定していなかったため、以下に、領域としての大きな目標であった、共通の研究基盤「染色体OS情報プラットフォーム(様々な動的過程における染色体動態のデータベースとその動態を体系的に注釈、可視化し、共同研究を促進するツール)」と「モデル染色体」(二つ以上の染色体機能の連携を生化学的、細胞生物学的に理解するための再構築系)についての達成度をまとめる。

#### ① 染色体OS情報プラットフォームの構築と提供

染色体OS情報プラットフォームとは、新学術領域研究「染色体オーケストレーションシステム」において共通の情報研究基盤として開発されたものであり(図3)、多くの計算コストを必要とする染色体高次構造解析機能をWebサービスとして研究者に提供する「計算サービス機能(Analysis Layer)」と計算された解析結果および公開データの格納、WWW経由での閲覧機能を提供する「データリポジトリ機能(Database Layer)」により構成される。計算サービス機能では、本研究領域で開発された新規情報解析アルゴリズムや、既存の公開解析プログラムを取り込んだ解析パイプラインが構築され、ユーザからデータをWWW経由で受け付けることで、

Web サービスとして利用可能な形となっている。また、データリポジトリ機能では、計算サービス機能を通じて解析された結果や、公開データをパイプラインに従って解析した結果をユーザが閲覧できる機能を提供している。このモジュールは OpenLooper (<https://openlooper.hgc.jp/>)として中井、朴班(公募班)により開発されてきたものである(図4)。また、ユーザ管理機能も整備されており、データの完全一般公開のみならず、特定の研究者コミュニティ内での利用も可能である。本プラットフォームは保守・維持体制を考慮し、東京工業大学から東京大学・医科学研究所ヒトゲノム解析センターが運用しているスーパーコンピューター SIROKANE に移設し、最終的に <https://chromos.hgc.jp/> より公開した。染色体高次構造解析(Hi-C、Pore-C 等)については、本解析パイプラインからは、コンタクトマップに関する統計情報、コンタクトマップ(生の頻度、ノーマライズを受けた頻度、Z スコア)、TAD の抽出結果が出力される(図5)。OpenLooper は、データレポジトリシステムとして4S (Sharable, Scalable, Sustainable, Simple)を重視して設計されており、上述したデータ解析機能と有機的に連動して、染色体 OS 情報プラットフォームの中においてデータベース機能を担っている。伊藤が開発したHi-C 解析パイプラインとの連携、遺伝子発現制御の数理モデル化手法の実装は OpenLooper の基本モジュールを活用している(図4)。現在、領域内のRNA-seq,ChIP-seq,ATAC-seq, WGBS、Hi-C、Pore-Cなどのデータを登録・共有しており、74細胞種の600以上のNGSデータが公開・非公開という形で蓄積されている。本情報プラットフォームは各班員により活用されており、例えば深川、白髭、平野、荒木、広田、今井、境、新海、岡田、昆、石井らはそれぞれの研究対象の3D と4D の染色体構造についてデータの可視化を通して理解を深めるとともに、再構成系に用いる領域、部位、の抽出(深川、白髭、伊藤)、また、vivo の3D,4Dの染色体構造とvitroの染色体構造の比較と検討(平野、白髭、深川、伊藤)、機械学習による機能領域の推定(白髭、伊藤)、染色体動態の数理モデル化(平野、広田、伊藤、新海、境)、病変による染色体構造のモデル化(白髭、新海、今井)などに使用され、新たな視点からの染色体構造と動態の理解に大きく貢献している (Nat. Immun., 2015,Nat.

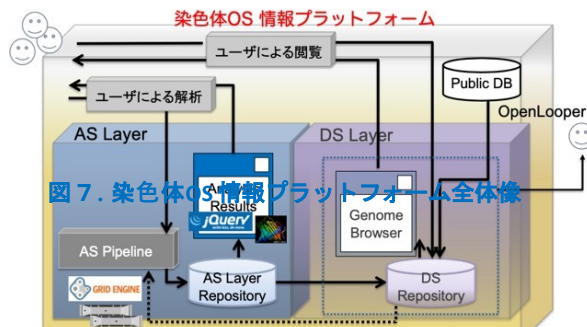


図3 染色体OS情報プラットフォーム全体像

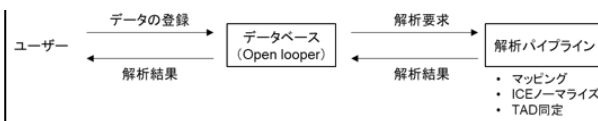


図4 染色体OS情報プラットフォーム解析の流れ

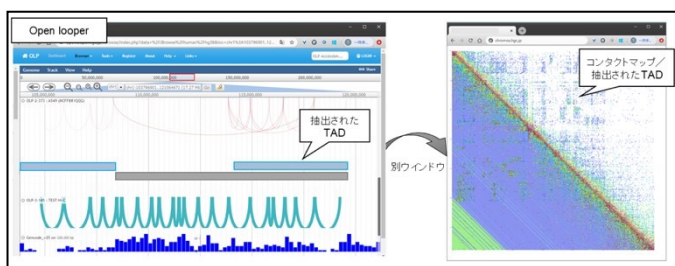


図5 解析結果閲覧のためのユーザーインターフェース

seq,ATAC-seq, WGBS、Hi-C、Pore-Cなどのデータを登録・共有しており、74細胞種の600以上のNGSデータが公開・非公開という形で蓄積されている。本情報プラットフォームは各班員により活用されており、例えば深川、白髭、平野、荒木、広田、今井、境、新海、岡田、昆、石井らはそれぞれの研究対象の3D と4D の染色体構造についてデータの可視化を通して理解を深めるとともに、再構成系に用いる領域、部位、の抽出(深川、白髭、伊藤)、また、vivo の3D,4Dの染色体構造とvitroの染色体構造の比較と検討(平野、白髭、深川、伊藤)、機械学習による機能領域の推定(白髭、伊藤)、染色体動態の数理モデル化(平野、広田、伊藤、新海、境)、病変による染色体構造のモデル化(白髭、新海、今井)などに使用され、新たな視点からの染色体構造と動態の理解に大きく貢献している (Nat. Immun., 2015,Nat.

Commun., 2015, 2018, Curr. Biol. 2015, 2018, Cell Rep., 2018, J. Cell Biol., 2017, 2019, J. Exp.Med., 2017, Nat. Cell Biol., 2018, Brief Bioinform.,2017, Bioinformatics., 2018, Methods Mol Biol.,2019, PLoS Comput Biol. 2018, Biomed. Res., 2018, Open Biol., 2020, Cancer Discov. 2020, Nat.Commun.). 本領域開始以降のOpenLooperへのアクセス数は年間平均約 8 万件、特に令和元年度は12万件近いアクセスがあり、またその利用は当初は国内が 85%であったものが令和元年度は13%と、国際認知度が飛躍的に高まっている。in silico での染色体 4D モデル化に関しては、公募班新海らの研究成果である PHI-C (ポスト Hi-C データ解析パイプライン)を実装し(Biophysical Journal, 2020)、今年度内に公開を目指しており、さらに、研究者間のスムーズなデータの交換等の機能も実装する。

## ② モデル染色体の構築と検証による新たな発見

in vivoと染色体OS情報プラットフォームによる解析を通し、様々な染色体機能の連携が予想された。これら複数機能の連携を検証するべく、「機能を二つ以上もつ真核生物のモデル染色体の構築と染色体諸機能の連携機構の解明」という課題を設定した。in vitro モデル染色体の構築と活用は平野、荒木、深川、白髭、岩崎、篠原らを中心として進められた。平野らは分裂期染色体がいかにして構築されるかという問題について解明すべく、自らの発見である2つのコンデンシン複合体(コンデンシン I とII)を用い、染色体構造の再構成という難問に取り組んだ。まず、コンデンシン I を含むわずか6種類の精製タンパク質因子を用いて分裂期染色体を試験管内で再構成することに成功した(Science, 2015)。さらに、染色体構築に必須な因子のほぼ全てを、純度の高い組換え型タンパク質として精製することができるようになったばかりでなく、「ヌクレオソームを持たない」染色体の構築という予想をはるかに超えた成果を班員の大杉らとともに得るに至った(Science, 2017)(図6)。荒木らは in vitro DNA 複製系の導入を行い、国内では唯一の真核生物の in vitro DNA 複製系を活用できる研究室となっている(Genes Dev. 2018, FEBS Lett. 2019)。深川らは動原体の再構成系を用いて解析を進め、セントロメア構築の重要なステップを次々と明らかにした(J. Cell Biol., 2019, Nat. Cell Biol., 2018)。機能連携の観点からは、荒木らは複製フォークが複製フォーク阻害構造に衝突した際に複製停止が引き起こされるメカニズムについて詳細に解析し、その反応を再構成することに成功した(Genes & Dev., 2018, FEBS Lett. 2019)。すなわち、複製と細胞周期チェックポイントの連携機構を試験管内で再構成した。白髭は古くからある転写の in vitro 系を再検討し、in vivo のデータから予測されていた染色体高次構造を形成する役割を持つコヒーシスローダーがエンハンサーの構成因子であり、転写活性化に呼応してエンハンサーとプロモーターを物理的にリンクする活性を持つことを世界で初めて示した。つまり、染色体高次構造形成因子で

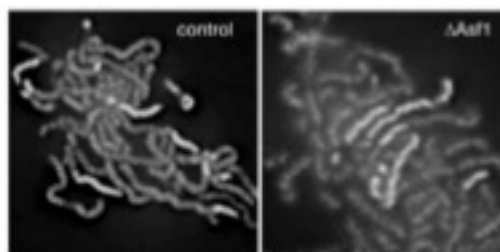


図6 ヌクレオソームなしに再構成された染色体構造(右)

あるコヒーシオンによる転写制御、高次構造と転写の連携機構についてその具体的な役割を実態として明らかにした(投稿準備中)。岩崎は相同組換えにおける DNA 鎖交換反応と初期過程の DNA 切除反応の連携を連続的かつ段階的に再構成した(Nat Struct Mol Biol. 2018, Nat. Commun. 2020)。さらに、これらの再構成系を土台として、平野は深川らと *in vitro* で作成された染色体ヘセントロメアを構築するための研究を、白髭らとは、*in vitro* で再構成された染色体上のコンデンシンの局在を解析する共同研究おこなった。荒木らは公募班員の村山(東工大/現遺伝研)とコヒーシオンを *in vitro* 系に導入し、分配と複製の連携機構を解明すべく共同研究を行った。また、荒木は深川とセントロメア領域の複製様式について *in vitro* 系を用いた共同研究を行った。広田は深川らの再構成系を用い、動原体ストレッチングのスピンドルチェックポイント制御機能について、共同研究を進めた。これらはいずれも現在進行中である。公募班の研究として特筆すべきものを列挙する。竹林らは single-cell DNA replication sequencing(scRepli-seq)の確立に世界で初めて成功した(Nat. Genet., 2019)。舩本らはヒト人工染色体(HAC)を用いてセントロメアや染色体諸機能の階層的集合メカニズムを解明に取り組み、複数のエピジェネティクス因子を介した新規メカニズムを明らかにした(投稿準備中)。新海らは理論的計算から Hi-C データと高分子モデルの関連を解明し、Hi-C データ解析方法をソフトウェア(PHI-C)として実装することに成功した(Biophysics Journal, 2020)。西山らはコヒーシオン分子の動態解析により、コヒーシオンリングとDNAループ形成の詳細なメカニズムの解明に迫りつつある(EMBO J., 2016, 2017)。村山は精緻なコヒーシオンローディングのメカニズムを世界に先駆けて再構成した(Cell, 2015, 2018)。佐々木は複製と組換えの連携機構について独自の系を構築し新たな知見を得た(Mol. Cell., 2017)。高橋は修復とクロマチンリモデリングの連携機構を再構成した(Genes Dev., 2018)。境は分子動力学を用い、分裂期の染色体の動態を数理モデル化した(Methods Mol Biol., 2019, PLoS Comput Biol.2018)。

以上、複雑な染色体機能の連携を再構成系、1細胞解析系、数理生物学を用いて解き明かそうという先駆的かつ意欲的な試みが、この領域の目玉でもある染色体OS情報プラットフォーム、モデル染色体を核としてなされ、目覚ましい進展を見せた。染色体研究の新たな時代を切り開くための礎を十分に築き上げることに成功した。

#### (4) 本研究領域により得られた成果(下線は領域内連携研究の成果。研究班ごとに以下にまとめる)

##### ① 分裂期染色体の 3D 構築原理

平野(大杉):平野は長年に渡って確立したカエル卵抽出液とカエル精子核を用いた染色体の試験管内再構成系を改変し、僅か6種類の精製タンパク質から分裂期染色体を試験管内で再構成することに成功した(Science, 2015)。さらにこの系をカエル卵抽出液とマウス精子核に応用した結果、染色体はヌクレオソームなしで再構成できるという「教科書を書き換える」画期的な発見として、世界的に大きな評価を得た(Science, 2017)(大杉との共同研究)。



② **染色体軸-ループ構造(染色体 3D 構造)に基づく減数分裂期の染色体機能の制御**  
篠原(篠原):減数分裂期特異的な染色体構造の分子基盤および組換え反応中の DNA2重鎖切断形成と相同鎖検索反応に関わる分子機能・制御の理解を目指した。その結果、減数分裂期におけるリン酸化依存的なコヒーシンの領域特異的解離と、そのリン酸化酵素の同定に成功した(Nat. Commun., 2019,2020, PLoS Genet., 2019)。この発見は、減数分裂期染色体上におけるコヒーシンを局所的に変化させることで領域特異的な染色体機能ドメインが形成されるという普遍的かつ新たな概念を提唱するものである。

③ **DNA 二重鎖切断修復装置の 3D 作動原理**

岩崎:相同組換えによる二重鎖切断 DNA の修復機構を試験管内で再構築し、その作動原理を解明することを目指した。相同組み換えには Mre11-Rad50-Nbs1(MRN)-Ctp1 複合体の関与が知られていたが、本研究ではこれら構成因子の時期特異的な相互作用を詳細に解析した結果、初期過程における Ctp1 による Mre11 活性化機構、中期過程における DNA 鎖交換反応の速度論的反応機構を解明した(Nat Struct Mol Biol. 2018, Nat. Commun. 2020)。これは、真核生物における相同組換え分子機構の普遍的な共通機序であると考えられ、高い普遍性と波及効果を有する。

④ **セントロメアを中心とした染色体構築原理**

深川:セントロメア領域を中心とした染色体の構築原理の理解を目指した。その結果、精製蛋白を用いたセントロメア複合体の試験管内再構成系の確立とその新規制御機構の発見(J. Cell Biol., 2017, Nat.Cell Biol., 2018)、さらにセントロメア領域の可塑性とそれに関わるゲノム領域の 3D レベルでの同定に成功した(J Cell Biol., 2019)(伊藤との共同研究)。この成果は、セントロメアの理解のみならず、機能装置としての染色体構造の理解に重要な知見を提供し得る。

⑤ **染色体 3D 構造の複製を基盤とした染色体動態の連携**

荒木:出芽酵母の in vitro DNA 複製系を確立し、それを基盤に、種々の染色体動態因子の解析を行い、染色体動態間の連携の分子機構解明することを目指した。In vitro の複製系を精製タンパク質から再構成した結果、pre-RC 形成反応の中間体と思われる構造を認め、pre-RC 形成の新規モデルを提案することができた。さらにこの系にフォーク停止因子やコヒーシン導入した解析から、in vitro 複製反応を行う鋳型DNAは人工染色体として振舞っていることが示唆された(Genes Dev. 2018, FEBS Lett. 2019)。本成果は今後の染色体研究に重要な技術基盤となる。

#### ⑥ 分化過程の染色体 4D 情報

白髭(永江、岡田):本研究は細胞分化過程、疾患細胞の解析を中心として、染色体高次構造と染色体機能の連携をゲノム学、遺伝学、生化学的手法を駆使して解き明かそうというものである。顕著な業績として、1)コヒーシンのアセチル化が2つの異なる経路により制御されていることの発見(Curr. Biol.,2015, 2018)(広田、鐘巻との共同研究)、2)大脳皮質分化におけるコヒーシンの動態と役割を解明(J.Exp. Med., 2017)、3)生化学的にコヒーシンを転写装置の中に位置づけたこと、4)コンデンシンの局在原理の発見(Nat. Commun., 2015)(平野との共同研究)、5)Hi-C、Pore-C、定量的 ChIP-seq、ChIA-drop 等のゲノムワイドな染色体解析技術を導入するとともに(Brief Bioinform.,2017,Bioinformatics., 2018)、機械学習により染色体機能領域を予測する手法を導入した(Open Biol., inpress)、など、領域内外に広くデータと技術を提供した。また、分担者の岡田は、白髭と共同でマウスの精子細胞の分化や初期胚発生に焦点を当てて各種解析を試み、6)マウス初期胚発生において H3K4モノメチル化が極めて初期の転写調節に必須の役割を有することを明らかにした(Cell Rep., 2018)。7)生殖細胞特異的な新規クロマチン凝集マーカーとして TH2A のリン酸化とその責任酵素が Haspinであることを同定した(Chromosoma, 2017)。

#### ⑦ 染色体高次構造情報の計算機的再構築および染色体構造と表現型の連関解析

伊藤(吉田・昆):並列 NGS データから染色体高次構造を導き出す情報学的解析アルゴリズムおよび必要となるゲノム解析手法を確立し、ツールとして整備することを目標とした。次にこのツールと班員のNGS データを統合した染色体 OS プラットフォームを構築することで、班員間での情報共有を促進した。その結果、オリジナルな手法を含む各種 NGS データ情報解析パイプラインを構築し、数多くの班員との共同研究により各種解析を実施、さらに染色体 OS プラットフォームの公開も実現に至った。昆らは骨髄異形成症候群について、NGS解析を通じて腫瘍発症の分子基盤解明を行った(Cancer Discov.,2020)(白髭との共同研究)。

#### ⑧ 染色体不安定性獲得過程の染色体 4D 情報

広田(石井浩):がん細胞の染色体不安定性と関連する染色体構造とその制御機構の解明を目的とした。得られた二つの主な成果は、それぞれがんの分子病態の一つである染色体の数と構造の異常を理解する上で重要な位置づけにある。第一に、細胞の悪性形質転換過程で、染色体上の M 期キナーゼやクロマチン制御因子の動態が変化し、異数体細胞を作り出す病理経路を明らかにした(Dev Cell, 2016)。第二に、M 期進行の数理モデルを伊藤らと構築し、染色体分離の脆弱点を予測した(Biomed Res., 2018)。また染色体ストレス下では相同組換え機構が染色体を誤認識して構造変化を生み出すことも明らかにした(NAR, 2016)。細胞のがん化は、染色体の構造・動態制御

の破綻を誘導し、その結果として変異原性が高く悪性度の高い細胞群を作り出すという病理機構の存在が見えた。

#### ⑨ ウイルス感染に対する宿主染色体の 4D 応答機構

今井:本研究では、ウイルス感染に伴う宿主高次エピゲノムの変動、ウイルスと宿主エピゲノムの相互作用を解析し、高次エピゲノム作動原理を明らかにすることを目的とした。これまでに、インフルエンザウイルスNPタンパク質と結合するヒストンメチル化酵素としてSuv4-20h2を同定した。ChIP-seq、RNA-seq、Hi-C による検討を白髭、伊藤、新海らと行ったところ、同酵素と NP の相互作用は宿主クロマチンの 3D 構造の変化を惹起し感染症の病態形成に関わる宿主遺伝子である HoxC8 および HoxC6の発現をコヒーシンを介して誘導した。さらに、ウイルス感染症重症化のリスクファクターであるがんや慢性肺疾患においても、同様のエピゲノム変化が既に非感染状態で見られ、これがインフルエンザ重症化に関与している知見を得た(Nat. Commun.)。

#### ◆ 公募班(第一期)

#### ⑩ Piwi-piRNA によるエピゲノム制御機構の解明

佐藤:piRNA 制御機構の主要因子である Piwi と Mea1 の新規結合タンパク質として Brm を同定し、これが標的トランスポゾンの転写活性化制御因子であることを明らかにした(Genes Dev., 2016)。

#### ⑪ ゲノム反復配列の核内ターミング

山中:ゲノム上反復配列結合蛋白質の新規同定法を確立する過程で、マウス胎児期の雄性生殖細胞におけるトランスポゾンの一過的な活性化とそれに随伴するエピゲノム変化を見出した(Dev. Cell, 2019) (中井、朴との共同研究)。

#### ⑫ 電子顕微鏡による染色体動態を担う超分子複合体の構築原理及び制御・遷移機構の研究

真柳:ヌクレオソーム-FACT 複合体をクライオ電子顕微鏡を用いて解析し、その機能構造連関の解明を目指した。その結果、FACT の天然変性領域が DNA を置換しながらヌクレオソームへ侵入するというリモデリングの初期過程をとらえる事に成功した(Sci. Rep., 2019, 2018)。

#### ⑬ ストレスによる次世代でのテロメア短縮

石井:白髭、伊藤らと共同で ATF7 による次世代ストレス応答の制御機構の解明を試みた。その結果、ATF7 が TERRA の経る精子伝搬によって TNFalpha-p38 経路を介してテロメア短縮に関与すること、さらに父親の栄養ストレスの経世代効果も

ATF7/H3K9 メチル化が責任因子であることを示した(Commun Biol., 2020, Mol Cell., 2020, Nat. Commun., 2018, Nat. Immunol., 2015)。

**⑭ Smc 複合体による DNA 高次構造解消反応の制御機構の解明**

村山:染色体構造機能が不明な Smc5/6 複合体について、その DNA 高次構造解消における機能解明を試みた。その結果、Smc5/6 複合体が DNA 高次構造を直接認識し、ATPase 活性を介して DNA 構造の制御を行う可能性を示唆する結果を得た。また派生研究として、コヒーシスが DNA 複製時に形成される単鎖 DNA 領域を標的として染色体間での接着を形成するという新規のモデルを提唱した(Cell, 2015,2018)。

**⑮ 染色体機能ドメイン制御の可塑性とその意義**

竹林:複製ドメイン構造を単一細胞で、かつゲノム網羅的に調べることができる申請者独自の技術single-cell DNA replication sequencing (scRepli-seq)の開発を目指した。結果、単一細胞レベルでの1)複製ドメイン構造の網羅的マッピング、2)複製ドメイン制御と細胞の分化状態との関係の解明を達成した(Nat. Genet., 2019)。

**⑯ ゲノム配列情報解釈のための染色体構造情報データベースの構築**

中井:次世代シーケンサーを活用した網羅的エピゲノム、三次元クロマチン構造情報を収集する独自のデータベース OpenLooper を構築し、さらに計画班の伊藤と共同で領域 NGS データベース整備に貢献した。さらに領域内連携でリンパ球や生殖細胞を対象とした Hi-C やメチル化解析を行った(Sci. Rep.,2017, Dev. Cell, 2019)。

**⑰ 多能性誘導過程におけるゲノム恒常性**

坪内:多能性誘導過程のプロセスを生細胞中で追跡するシステムの構築を試みた。ライブイメージングで追跡した個々の多能性誘導細胞における多能性因子の発現レベルを1分子 RNA-FISH で評価できるようになった。

**⑱ 遺伝子発現制御と高次ゲノム構造動態の関係解明**

落合:特定遺伝子の核内位置および転写活性の可視化技術(ROLEX システム)を開発・利用することで、ES 細胞における各遺伝子領域の流動性は転写活性に依存的ではなく、核内構造(コンパートメントサイズ)によって規定されていることを明らかにした(Sci. Adv., in press, PLoS Comput. Biol., 2019,Methods Mol Biol., 2019)。

**⑲ 胚性幹細胞の機能を支える H3K9me2 染色体構造**

立花:マウス胚性幹細胞の機能を担保している H3K9me 染色体ドメインの構造とそれに関わる分子群の解明を目的とした。その結果、HP1  $\alpha / \beta / \gamma$  が H3K9 メチル化の認

識のみならず染色体ドメインの構築に関与していることを白髭班との共同研究によって明らかにした (Stem Cell Rep., 2018)。

#### ◆ 公募班(第二期)

##### ⑳ 数理手法を用いた分裂期染色体ダイナミクスの解明

境: 平野との共同研究により、分裂期染色体の形成・分離におけるコンデンシンのループ形成と引力相互作用と機能を、数理モデルとシミュレーションを用いて再現することに成功した (Methods Mol Biol., 2019, PLoS Comput Biol. 2018)。

##### 21 一分子再構成系を用いた染色分体間接着マシナリーの理解

西山: コヒーシナー分子の挙動観察によって、コヒーシンの ATP 加水分解活性依存的に DNA ループが押し出される様子を観察することに成功した。さらに DNA ループの安定維持にはヘッドドメインの解離が重要であることを示した (EMBO J., 2016, 2017)。

##### 22 ヘテロクロマチンボディーの構築原理の解明

小布施(半年のみ): HP1 結合タンパク質 AHDC1 によるヘテロクロマチンボディーの形成とクロモセンターの形成について検討し、ヘテロクロマチンボディー構築の一局面を示すことができた。

##### 23 クロマチンアクセシビリティの制御機構の解析

宮成: 改良型 ATAC-seq と CRISPR スクリーニングを組み合わせることにより、クロマチンアクセシビリティに影響を与える約 100 個の因子を同定した。そのうち TFDPI1 はヒストン遺伝子群の転写制御に関わるマスター因子で、その欠失によってゲノム全体のアクセシビリティが上昇することを見出した。

##### 24 相同性依存的修復の品質管理機構を次世代シーケンス技術を用いて探る

高橋: ツメガエル卵抽出液を用いた試験管内モデル系を用い、DNA 合成エラー修復と誤った HDR の抑制を分岐させる機構の理解を目指した。その結果、エラー修復とクロマチンリモデリング反応の連携機構を再構成できた (Genes Dev., 2018)(小布施との共同研究)。

##### 25 DNA 二重鎖切断修復によるゲノム安定性維持機構の 4D 情報

佐々木: 出芽酵母の rDNA 領域における複製阻害時の DNA 二本鎖切断修復機構の解明を目指した結果、DNA 二本鎖切断修復に関与する因子として、複製装置構成因子 Ctf4 を含む候補因子を同定した (Mol. Cell., 2017)。

- 26 1 細胞 Hi-C を用いた、G2 期姉妹染色分体間の立体的関係の探索**  
永野: 姉妹染色体を識別可能な新規 Hi-C の確立を目指し、1 対の姉妹染色分体間の空間距離を解析できる chromatid Hi-C を確立することができた。
- 27 Hi-C データを活用した疾患メカニズムの解釈**  
須山: 乾癬を対象として、GWAS で同定された SNP とエピゲノムとの関連について検討した結果、一部の SNP がエンハンサー領域に存在し、遺伝子発現制御に関与すること、さらに新規標的遺伝子として ERRFI1 を同定した (BMC Med. Genomics, 2020)。
- 28 AID 技術を利用したヒト染色体維持機構と染色体構造の関係性の解明**  
鐘巻: 自らが確立した AID 技術を用いて、細胞周期依存的な SMC5/6 複合体の機能の解明、MCM8-9複合体協調因子 HROB の同定に成功した (Cell Rep., 2020, Genes Dev., 2019)。さらに改良版 AID システムである AID2 を完成した。
- 29 染色体構造データベースを利用した転写制御のモデリング**  
朴: 公募第一期に中井班が構築したデータベース OpenLooper の機能拡張・改良を行い、登録ユーザー間のデータシェアリングとゲノムブラウジングをシームレスに行えるようにした。現在、74 細胞種の600 以上の様々な NGS データを登録するに至った。  
公募班(第一期、第二期共通)
- 30 染色体融合による M 期停止機構の4D 解析**  
林: 染色体融合に依存した現象を上皮間葉転換モデルを用いて解析し、S 期遅延と M 期停止が間葉細胞特異的に起こることを明らかにした (Nat. Comm. 2019)。さらに染色体融合細胞をトラッキングできる可視化システム (FuVis) を構築した。
- 31 分子修飾情報を実装した染色体数理モデルによるクロマチンドメイン内相互作用の研究(第一期)**  
**染色体3次元構造理論の構築と応用: 深層学習を援用した染色体4D シミュレーション(第二期)**  
新海: 理論的計算から Hi-C データと高分子モデルの関連を解明し、Hi-C データ解析方法をソフトウェアとして実装することに成功した (Biophysics Journal, 2020)。PHi-C (ファイシー) <https://github.com/soyashinkai/PHi-C> にて公開している。
- 32 染色体機能形成の階層性とゲノム反復 DNA 上のクロマチン構造の解明**  
舩本: ヒト人工染色体 (HAC) を用いてセントロメアや染色体諸機能の階層的集合メカニズムを解明に取り組み、複数のエピジェネティクス因子を介した新規メカニズムを明

らかにした (Exp. Cell Res.,2020, Sci. Rep., 2016, Dev. Cell, 2016)。