

R N G

Replication of Non Genome

Newsletter



RNG

Replication of Non Genome

新学術領域研究(研究領域提案型)
多様かつ堅牢な細胞形質を支える
非ゲノム情報複製機構
略称:非ゲノム情報複製
領域番号:7103

06

2022 July

R N G

Replication of Non Genome

Newsletter

新学術領域研究(研究領域提案型)
多様かつ堅牢な細胞形質を支える
非ゲノム情報複製機構
(略称:非ゲノム情報複製/7103)

06
2022 July



表紙イラスト：
サンドロ・ボッティチェッリ(Sandro Botticelli, 1445年3月1日 - 1510年5月17日)
『ヴィーナスの誕生』(La Nascita di Venere)

CONTENTS

- 02 領域代表挨拶
- 04 公募研究班
- 22 活動報告
- 23 コラム 油谷 浩幸
- 24 受賞・人事

Greeting 領域代表挨拶

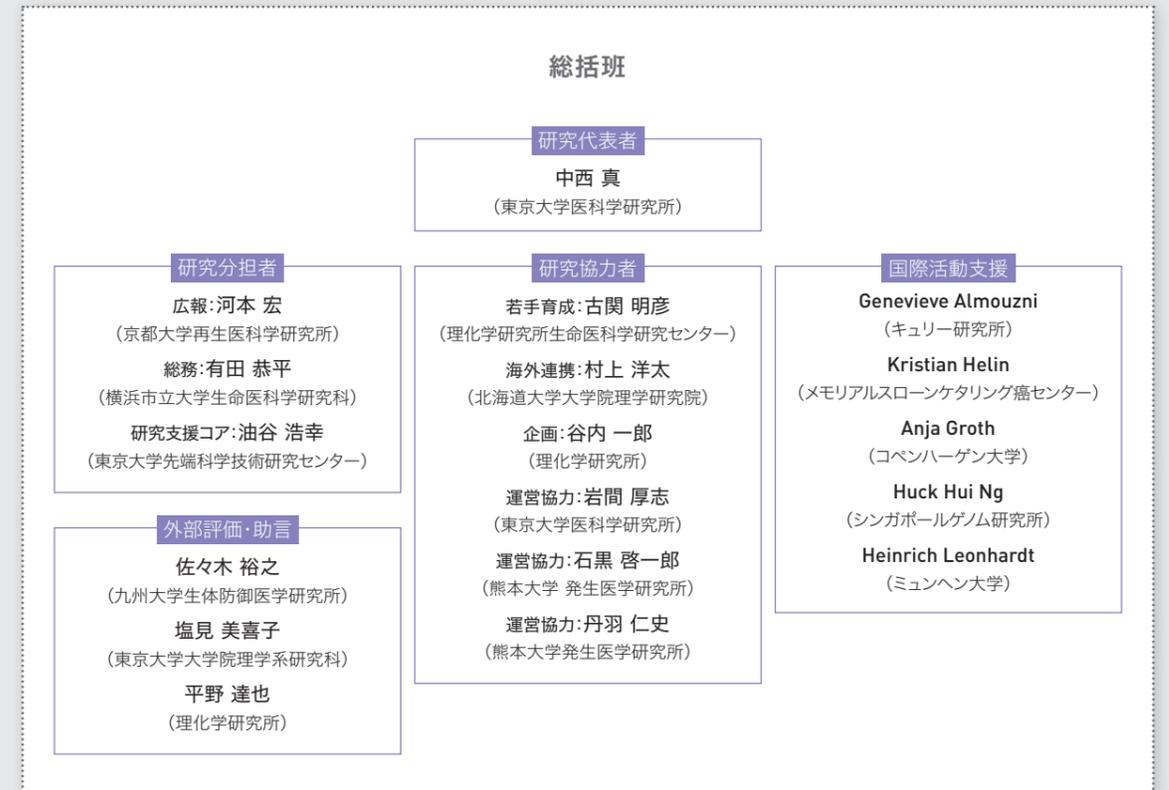
新学術領域研究“非ゲノム情報複製”の皆様、領域代表の東京大学医科学研究所 中西 真です。どうぞよろしくお願い致します。本年度4月より本領域も後半戦が始まりました。多くの公募班の皆様は前半戦の時から継続となりますが、新たに本領域にご参加の皆様を含めまして、どうぞ領域全体の発展のためにご尽力よろしくお願い申し上げます。

さて、長い間対面での会議が困難な状況が続いて参りましたが、やっと国内を含めて世界的に対面での学会や研究会の開催が始まりました。本領域も本当に久しぶりに対面での全体会議をこの8月に予定しております。オンラインでの会議もそれなりに充実したものでしたが、やはり対面での会議に勝るものではないように思います。班会議では研究内容の発表とその後の議論はもちろん重要ですが、それ以外のコーヒープレイク中や立ち話でのたわいも無い会話の中にこそ新たな共同研究の鍵が隠れているものと思います。是非とも今年度は充実した班会議にしたいものです。また領域としてはこれまで延期続きとなっておりました国際シンポジウムの開催も企画したいと考えております。領域発足の年に、招待演者も決まり、飛行機等の手配も全て終わり、まさに開催を残すのみという状態で、COVID-19 パンデミックが始まり、泣く泣く延期を決断したのがもう随分と以前のような感があります。新学術領域研究を成功させるためには、日本を含めて世界中が研究交流できずにいた状況から一刻も早く立ち直らなければなりません。今回の国際シンポジウムがその手助けになることを祈っております。どうぞ皆様、今年度も本領域の活動をご支援いただきますようよろしくお願い申し上げます。



領域代表
中西 真
東京大学医科学研究所 教授

Organization 組織



計画研究班

- A01 非ゲノム情報の基本的複製機構**
- 研究代表者 中西 真(東京大学医科学研究所)
 - 研究分担者 鷗木 元香(九州大学生体防御医学研究所)
藤 泰子(東京大学大学院理学系研究科)
 - 研究代表者 有田 恭平(横浜市立大学生命医科学研究所)
 - 研究代表者 村上 洋太(北海道大学大学院理学研究院)
 - 研究代表者 石黒 啓一郎(熊本大学発生医学研究所)
 - 研究代表者 油谷 浩幸(東京大学先端科学技術研究センター)
 - 研究分担者 永野 隆(大阪大学蛋白質研究所)
- A02 非ゲノム情報複製機構による細胞機能制御**
- 研究代表者 古関 明彦(理化学研究所生命医科学研究センター)
 - 研究分担者 遠藤 高帆(理化学研究所生命医科学研究センター)
 - 研究代表者 岩間 厚志(東京大学医科学研究所)
 - 研究分担者 北村 俊雄(東京大学医科学研究所)
 - 研究代表者 谷内 一郎(理化学研究所)
 - 研究分担者 河本 宏(京都大学ウイルス・再生医科学研究所)
 - 研究代表者 丹羽 仁史(熊本大学発生医学研究所)

公募研究班

- A01 非ゲノム情報の基本的複製機構**
- 研究代表者 加納 純子(東京大学大学院総合文化研究科)
 - 研究代表者 宮成 悠介(金沢大学 ナノ生命科学研究所)
 - 研究代表者 池田 陽子(岡山大学資源植物科学研究所)
 - 研究代表者 落合 博(広島大学統合生命科学研究所)
 - 研究代表者 前原 一満(九州大学生体防御医学研究所)
 - 研究代表者 高橋 達郎(九州大学大学院理学研究院)
 - 研究代表者 鐘巻 将人(国立遺伝学研究所)
 - 研究代表者 服部 奈緒子(国立がん研究センター研究所)
 - 研究代表者 正井 久雄(東京都医学総合研究所)
- A02 非ゲノム情報複製機構による細胞機能制御**
- 研究代表者 星居 孝之(千葉大学大学院医学研究院)
 - 研究代表者 黒川 峰夫(東京大学医学部附属病院)
 - 研究代表者 岸 雄介(東京大学定量生命科学研究所)
 - 研究代表者 横林 しほり(京都大学iPS細胞研究所)
 - 研究代表者 深川 竜郎(大阪大学大学院生命機能研究科)
 - 研究代表者 鈴木 淳史(九州大学生体防御医学研究所)
 - 研究代表者 秋山 智彦(横浜市立大学医学部)
 - 研究代表者 坂下 陽彦(慶應義塾大学医学部)
 - 研究代表者 立和名 博昭(がん研究会)

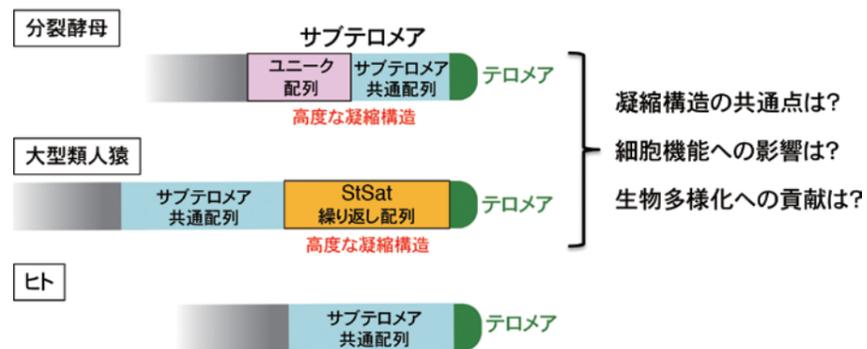
染色体末端特異的凝縮構造による非ゲノム情報維持機構

真核生物の線状染色体の末端にはテロメアと呼ばれるドメインが存在し、染色体末端構造の維持、細胞寿命制御、細胞分裂期の染色体動態制御など、生命維持に重要な役割を果たしています。そのテロメアに隣接して“サブテロメア”と呼ばれるドメインが存在します。サブテロメアは、長大な重複配列がモザイク状に存在することによる様々な実験手法的困難から、その機能がまだほとんど明らかにされていない“染色体の未開の地”です。これまでに我々は、染色体の数が非常に少ないなどの様々な利点を活かし、分裂酵母のサブテロメアのクロマチン構造の形成機構や機能について研究してきました。中でも、セントロメアタンパク質 Sgo2 が、細胞周期の間期特異的にサブテロメアにリクルートされ、高度に凝縮した Knob 構造の形成を誘導することを発見しました。しかし、Sgo2 の具体的な作用機序や Knob の細胞内機能については多くの謎が残されています。一方、興味深いことに、ヒトと進化的に最も近いとされる大型類人猿（チンパンジー、ボノボ、ゴリラ、オランウータン）は、ヒトとは大きく異なる染色体末端構造をもち、ヒトには存在しない StSat と呼ばれる繰り返し配列がテロメアとサブテロメアの間が存在します。最近の我々の研究により StSat も Knob と同様に高度に凝縮したクロマチン構造を形成することがわかってきましたが、その形成機構や機能は不明です。そこで本研究では、染色体末端近傍領域の特徴的な凝縮構造がどのように形成され、どのような機能を果たしているのかを明らかにすることを目的とし、真核生物のサブテロメア凝縮構造の共通点、相違点を解明します。



研究代表者
加納 純子
東京大学大学院総合文化研究科
広域科学専攻 生命環境科学系
教授
jkanoh@bio.c.u-tokyo.ac.jp
http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/jkanoh/

特殊な染色体末端凝縮構造の形成メカニズムと機能の理解



Publications

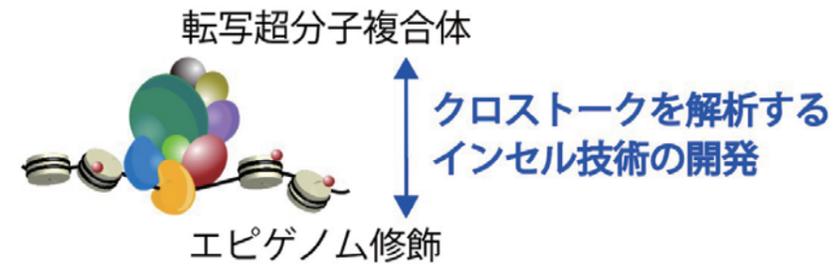
- Oizumi, Y., et al., *Kanoh, J.* Shugoshin forms a specialized chromatin domain at subtelomeres and regulates transcription and replication timing. *Nat Commun* 7, 10393 (2021)
- Inoue, H., et al., *Kanoh, J.* Casein kinase 2 regulates telomere protein complex formation through Rap1 phosphorylation. *Nucleic Acids Res* 47, 6871-6884 (2019)
- Tashiro, S., et al., *Kanoh, J.* Subtelomeres constitute a safeguard for gene expression and chromosome homeostasis. *Nucleic Acids Res* 45, 10333-10349 (2017)
- Tashiro, S., et al., *Kanoh, J.* Shugoshin forms a specialized chromatin domain at subtelomeres and regulates transcription and replication timing. *Nat Commun* 7, 10393 (2016)
- Fujita, I., et al., *Kanoh, J.* Telomere-nuclear envelope dissociation promoted by Rap1 phosphorylation ensures faithful chromosome segregation. *Curr Biol* 22, 1932-1937 (2012)

クロマチン制御複合体のインセル解析

申請者はこれまで、マウス ES 細胞やマウス初期胚における、転写制御機構について研究してきた。これまでに多くの転写制御因子が同定され、エピジェネティクスやクロマチン高次構造の重要性が明らかとなってきたが、現在においても転写プログラムの全容が明らかにならなかったと到底言えない。遺伝子の転写活性は、クロマチンに結合する様々な転写因子が協調的に機能することによって制御される。クロマチン上に形成される多種多様な転写制御因子の集積（超分子複合体）とエピゲノム修飾の組み合わせこそが、複雑な転写ネットワークの制御を担うと考えられる。遺伝子発現の制御機構を包括的に理解するためには、従来の個々の分子中心の研究から更に一步踏み出し、①クロマチン上での転写複合体の実態を明らかにすること、更には②エピゲノム修飾と複合体との組み合わせによるクロストークを理解する必要がある。しかしながら、従来の ChIP-seq などのクロマチン解析技術や質量分析を用いた複合体解析では、クロマチン上での複合体形成、さらにはエピゲノム情報とのクロストークを解析することは困難である。本研究では、転写の現場である個々の遺伝子座のリアルな実態を把握するために、クロマチン上の複数の標的因子（タンパク質複合体あるいはエピゲノム修飾）を同時に検出するインセル技術を開発する。



研究代表者
宮成 悠介
金沢大学ナノ生命科学研究所
准教授
miyanari@staff.kanazawa-u.ac.jp
https://nanolab.kanazawa-u.ac.jp/research/researchers/yusuke-miyanari/



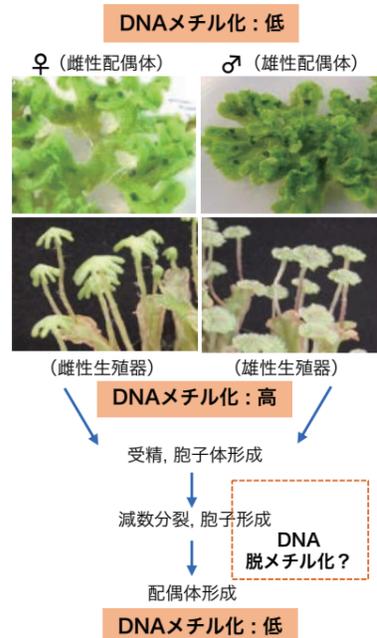
Publications

- Kurihara M, Miyanari Y, et al., Genomic profiling by ALaP-seq reveals transcriptional regulation by PML bodies through the DNMT3A exclusion. *Molecular Cell*, S1097-2765, 2020
- Fuchigami T, Miyanari Y, et al., Discovery of INCENP-derived small peptides for cancer imaging and treatment targeting survivin. *Cancer Science*, 111(4):1357-1366, 2020
- Miyanari Y, et al., Live visualization of chromatin dynamics using fluorescent TALEs. *Nature structural & molecular biology* 20(11) 1321-1324 2013
- Miyanari Y. and Torres-Padilla ME, Control of ground-state pluripotency by allelic regulation of Nanog. *Nature* 483(7390) 470-473 2012
- Li Y*, Miyanari Y*, et al., Sequence-specific microscopic visualization of DNA methylation status at satellite repeats in individual cell nuclei and chromosomes. *Nucleic acids research* 41, e186 2013

DNAメチル化ダイナミクス解析による 生殖過程のDNAメチル化消去・維持機構の解明

‘非ゲノム情報’のうち、DNAメチル化は唯一世代を超えて安定的に伝わる事が証明されている修飾であり、クロマチンとの相互作用を介して遺伝子の発現制御に関わることが知られている。DNAメチル化の次世代への伝達機構については、動物と植物で違いがみられる。動物では生殖過程でいったん消去され再度書き込まれるのに対し、被子植物の卵及び精細胞を介した胚系列ではDNA脱メチル化酵素による能動的な消去/再構成が行われず、DNA維持メチル化酵素の働きによりDNAメチル化情報が維持され次世代に伝えられる。そのため植物ではDNAメチル化の変化が次の世代に伝わりうる。我々は、シロイヌナズナを用い、この分子機構の一端を明らかにしてきた。さらに、植物特有のDNAメチル化維持機構がどのように進化してきたかを明らかにするため、進化上、陸上植物の基部に位置するゼニゴケを用い解析を行っている。興味深いことに、ゼニゴケでは、これまでの被子植物における知見と異なり、生殖前後でDNAメチル化がダイナミックに変化することが報告されている。ゼニゴケにおけるDNAメチル化制御機構は被子植物にはない、動物や原核生物との共通性が示唆されているが、その分子機構は未だ不明な点が多い。我々は、ゼニゴケ生殖過程におけるDNA脱メチル化酵素の機能に着目し、生殖細胞及び孢子発生過程におけるDNAメチル化のダイナミクスを細胞レベルで明らかにするとともに、その制御の実体を明らかにしたい。さらに、生殖過程におけるDNAメチル化を介したクロマチン構造の制御について明らかにしたい。

ゼニゴケ生活環を通じた DNAメチル化のダイナミックな変化



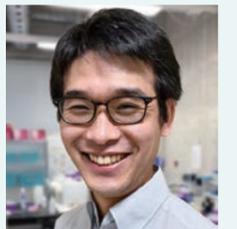
研究代表者
池田 陽子

岡山大学資源植物科学研究所
環境応答機構研究グループ・准教授
yiked@okayama-u.ac.jp
<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/ers/research.html>

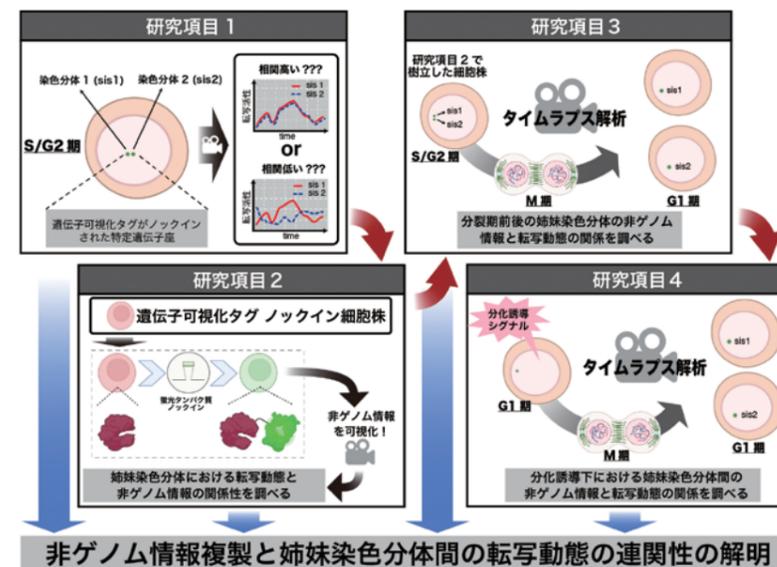
姉妹染色分体間の非ゲノム情報複製と 転写動態の連関性解明

細胞は細胞分裂前にゲノムDNAを複製し、姉妹染色分体を生じます。DNA-FISH等から、姉妹染色分体上の特定遺伝子ペアはS/G2期において、明確に離れて存在することが観察されます。一方、修飾ヒストンがほぼ対称的に両方の姉妹染色分体に受け渡されることから、姉妹染色分体間では非ゲノム情報が同等に複製・維持され、娘細胞において同様の遺伝子発現プログラムが実行されると考えられます。しかし、これらの知見は基本的には多数の細胞の平均情報を元に得られたものであり、空間的に分離している間期の姉妹染色分体間で非ゲノム情報がゲノムDNAと共に正確に複製・維持されるのか、ゲノムDNA複製後に情報が変化し得るのかについては、不明な点が多く残されています。

本研究では、ゲノムDNA複製後の姉妹染色分体間での転写動態を単一遺伝子イメージングにより定量的に解析し、1) 姉妹染色分体間での遺伝子発現動態の同期率を定量的に調べ、2) その同期率と非ゲノム情報関連因子の細胞核内局在を調べます。3) また、姉妹染色分体間での転写同期率や非ゲノム情報関連因子の細胞核内局在が細胞分裂前後でどの程度相関があるのかを調べます。また、4) 分化誘導条件下において、姉妹染色分体間での転写同期率がどの程度影響を受けるのか、定量的に調べます。これらにより、非ゲノム情報複製と姉妹染色分体間の転写動態の連関性の解明を目指します。



研究代表者
落合 博
広島大学統合生命科学研究所
准教授
ochiai@hiroshima-u.ac.jp
<https://home.hiroshima-u.ac.jp/ochiai/>



Publications

- Masuda, K., Ikeda, Y., et al., *Akagi, T. Reinvention of hermaphroditism via activation of a RADIALIS-like gene in hexaploid persimmon. *Nat Plants* 3, 217-224 (2022)
- Song, Q., Ikeda, Y., et al., *Chen, ZJ. Single-cell RNA-seq analysis reveals ploidy-dependent and cell-specific transcriptome changes in Arabidopsis female gametophytes. *Genome Biol* 21, 178 (2020)
- *Ikeda, Y., et al., *Mathieu, O. Loss of CG methylation in Marchantia polymorpha caused disorganization of cell division and reveals unique DNA methylation regulatory mechanisms of non-CG methylation. *Plant Cell Physiol* 59, 2421-2431 (2018)
- Ikeda, Y., et al., *Mathieu, O. Arabidopsis proteins with a transposon-related domain act in gene silencing. *Nat Commun* 8, 15122 (2017)
- Ikeda, Y., et al., *Kinoshita, T. HMG domain containing SSRP1 is required for DNA demethylation and genomic imprinting in Arabidopsis. *Dev Cell* 21, 589-596 (2011)

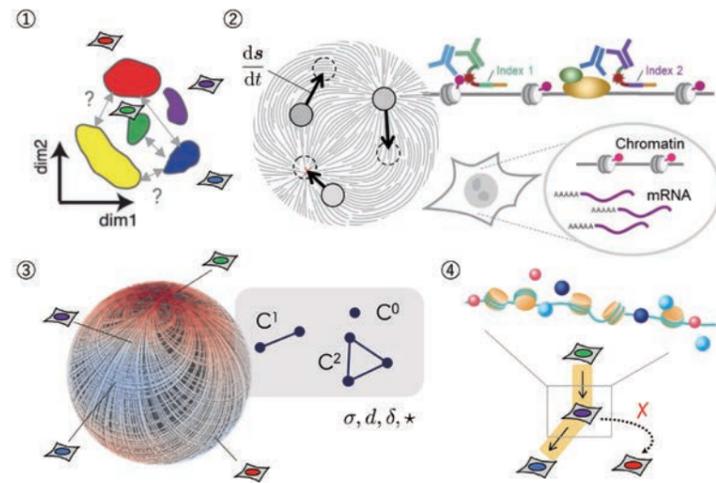
Publications

- *Ochiai, H., et al., Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. *Sci Adv* 6, eaaz6699 (2020)
- *#Seirin-Lee, S., et al., #*Ochiai, H., Role of dynamic nuclear deformation on genomic architecture reorganization. *PLoS Comput Biol* 15, e1007289-e1007289 (2019)
- *Ochiai, H., et al., Simultaneous live imaging of the transcription and nuclear position of specific genes. *Nucleic Acids Res* 43, e127 (2015)
- *Ochiai, H., et al., Stochastic promoter activation affects Nanog expression variability in mouse embryonic stem cells. *Sci Rep* 4, 7125 (2014)
- Ochiai, H., et al., TALEN-mediated single-base-pair editing identification of an intergenic mutation upstream of BUB1B as causative of PCS (MVA) syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 1461-1466 (2014)

クロマチン構造が規定する分化時の段階的遺伝子発現制御機構の解明

細胞分化に必要な選択的遺伝子発現は、クロマチンの凝集と弛緩に至る幅広いクロマチン構造制御が関与する。研究代表者はこれまで、計算機により新規マウスヒストンバリエーション群を網羅的に同定し (*Epigenetics & Chromatin*, 2015)、以来、クロマチン組成が規定する遺伝子の選択的発現機構の解明に取り組んできた。特にクロマチン組成による遺伝子発現制御のメカニズムを解明するため、ウェットとデータ解析技術の開発を同時に進めている。高感度な少数細胞エピゲノム解析技術 ChIL-seq を開発し、計測技術開発が進んだ一方、単一細胞レベルのエピゲノムデータを用いる細胞分化軌跡推定は、スタンダードな解析手法が確立されていない。

そこで本計画では、大規模オミクスデータによって明らかになってきた細胞種や状態のクラスター同士を繋ぐ経路 (図①; 分化過程や状態遷移のギャップ) をクロマチン構造の視点から明らかにすることを目指す。まず、エピゲノムとトランスクリプトーム情報を単一細胞内で同時に取得するマルチオミクス計測法の確立を目指す (図②; 状態変化を計測するマルチオミクス解析技術の確立)。次に、現在開発を続けている位相的データ解析手法を応用し、高次元な遺伝子発現空間のランドスケープを推定する (図③)。ランドスケープ上の分化経路を規定するクロマチン構成因子 (図④) をマルチオミクスデータの解析から明らかにすることで、分化における段階的遺伝子発現制御機構の解明に迫る。



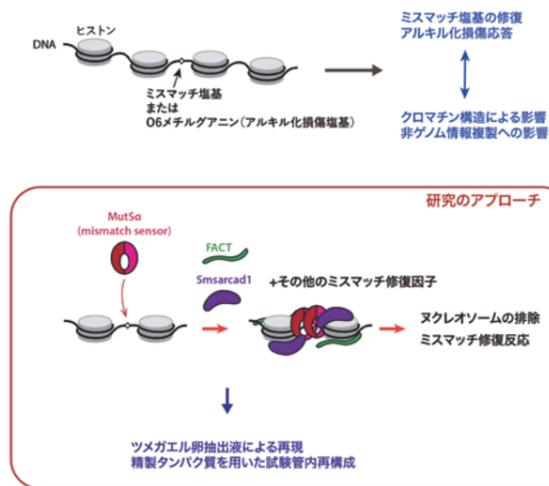
研究代表者

前原 一満

九州大学 生体防御医学研究所
トランスクリプトミクス分野・助教
kazumits@bioreg.kyushu-u.ac.jp
<https://tx.bioreg.kyushu-u.ac.jp/>

塩基ミスマッチを起点とするゲノム複製正確性維持反応と非ゲノム情報の機能的相関

DNA の正確な複製は全ての生物にとって必須の反応です。DNA 複製の正確性は、主に DNA 合成酵素の正確性に依存していますが、これに加えて複製の誤りを修復する「ミスマッチ修復」が重要な役割を担っています。ヒトにおいてミスマッチ修復が欠損すると、変率が上昇し、きわめて高頻度でがんを発症することが分かっています。さらに、ミスマッチ修復は、一部の塩基アルキル化損傷に反応して DNA 損傷チェックポイントを活性化したり、細胞死を誘導したりする機能も持ちます。この機能は、塩基アルキル化剤を用いた抗がん剤治療に応用されています。興味深いことに、ミスマッチ修復の効率はクロマチンの状態によって異なることが報告されています。ところが、ミスマッチ修復がなぜクロマチンの状態によって影響を受けるのか、そもそもミスマッチ修復反応がクロマチン上で起こるためにはどのようなしくみが必要なのかはほとんど分かっていません。我々のグループでは、ツメガエル卵抽出液を用いてミスマッチ修復がクロマチン上で機能するしくみを解析し、クロマチンリモデリング因子 Smarcd1 とヒストンシャペロン FACT がクロマチン上でのミスマッチ修復を補助することを発見しました。さらに我々は、ミスマッチに依存したヌクレオソームのリモデリング過程を精製タンパク質によって試験管内再構成し、Smarcd1 と FACT がそれぞれ異なるステップに機能する事を見いだしています。加えて、我々のグループでは、ミスマッチ修復機構に依存した塩基アルキル化損傷応答を、ツメガエル卵抽出液を用いて試験管内再現することにも成功しています。本研究では、これらの実験系を利用し、クロマチン上でミスマッチ修復機構に依存したさまざまな反応が起こるためのしくみ、およびクロマチン構造がミスマッチ修復の効率に影響を及ぼすしくみを解明します。



研究代表者

高橋 達郎

九州大学大学院理学研究院・教授
takahashi.tatsuro.465@m.kyushu-u.ac.jp
<http://www.biology.kyushu-u.ac.jp/~chromosome/>

Publications

- Harada, A.†, **Maehara, K.†** et al. Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration. *Nature communications* 9, 1–13 (2018).
- Harada, A.†, **Maehara, K.†** et al. A chromatin integration labelling method enables epigenomic profiling with lower input. *Nature cell biology* 21, 287–296 (2019).
- Handa, T.†, Harada, A.†, **Maehara, K.†** et al. Chromatin integration labeling for mapping DNA-binding proteins and modifications with low input. *Nature Protocols* 15, 3334–3360 (2020).
- Maehara, K.** et al. Modeling population size independent tissue epigenomes by ChIL-seq with single thin sections. *Molecular systems biology* 17, e10323 (2021).
- Fujii, T.†, **Maehara, K.†***, Fujita, M. & Ohkawa*, Y. Discriminative feature of cells characterizes cell populations of interest by a small subset of genes. *PLoS computational biology* 17, e1009579 (2021).

Publications

- Jones, M.J.K., **Takahashi, T.S.** et al., *Jallepalli, P.V. Human DDK rescues stalled forks and counteracts checkpoint inhibition at unfired origins to complete DNA replication. *Molecular Cell* 81, 426 (2021).
- Terui, R., et al., ***Takahashi, T.S.** Nucleosomes around a mismatched base pair are excluded via an Msh2-dependent reaction with the aid of SNF2 family ATPase Smarcd1. *Genes Dev* 32, 806 (2018).
- Kato, N., **Takahashi, T.S.** et al., *Gautier, J. Sensing and Processing of DNA Interstrand Crosslinks by the Mismatch Repair Pathway. *Cell Reports* 21, 1375 (2017).
- Kawasoe, Y., et al., ***Takahashi, T.S.** MutSa maintains the mismatch repair capability by inhibiting PCNA unloading. *eLife* 5, e15155 (2016).
- Higashi, T.L., et al., ***Takahashi, T.S.** The prereplication complex recruits XEco2 to chromatin to promote cohesin acetylation in *Xenopus* egg extracts. *Curr Biol* 22, 977 (2012).

非ゲノム情報による複製開始領域と複製タイミング制御メカニズムの解明

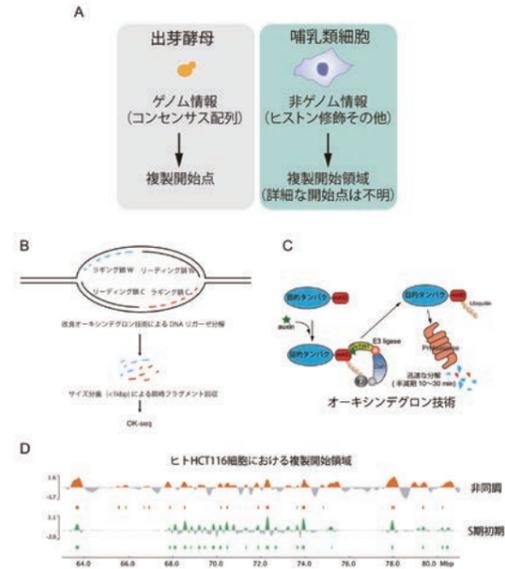
真核生物のモデル生物代表選手である出芽酵母においては、複製開始点がコンセンサス配列に規定されており、染色体上全ての複製開始点が同定されています。一方、ヒト細胞を含む哺乳動物の複製開始点には明確なコンセンサス配列が存在せず、非ゲノム情報により制御されていることが知られています (図 A)。これは、初期発生等ダイナミックに染色体が変化する状況では、コンセンサス配列できっちり複製開始点を決めないことが有利だったことを示しているのかもしれませんが、この性質のため、ヒト細胞においてはいくつかの代表的な複製開始領域を除けば、全ゲノムにおける詳細な複製開始点の位置や各々の活性は理解されておらず、従って非ゲノム情報との詳細な関連も明らかになっていません。

DNA 複製においてはリーディング鎖が連続して合成されるのに対し、ラギング鎖として非連続的に合成される岡崎フラグメントは、後に DNA リガーゼによって連結されます。そこで、DNA リガーゼを阻害し、岡崎フラグメントを集めて方向性を特定したままシーケンスすれば、染色体上の複製開始点の位置と活性を網羅的に同定できます (図 B)。この Okazaki sequence (OK-seq) 法は、出芽酵母の DNA リガーゼ温度感受性変異株を用いておこなわれましたが、ヒト細胞においては DNA リガーゼを効率よく不活化する方法が無かったため、

おこなわれたことがありません。そこで、私たちの研究室で開発したオーキシンドグロン法をヒト細胞の DNA リガーゼ LIG1 と LIG3 に応用し、リガンド添加により LIG1 と LIG3 を数時間以内に分解除去することが可能なヒト細胞を作りました (図 C)。これらの細胞において、OK-seq をおこない S 期における詳細な複製開始領域および複製フォークの移動パターンを検出することに成功しました (図 D)。本技術を利用して S 期初期から後期にかけての複製開始領域の変化と遺伝子発現や染色体構造との関係性を解析します。



研究代表者
鐘巻 将人
国立遺伝学研究所・教授
mkanemak@nig.ac.jp
<http://kanemaki-lab.sakura.ne.jp/jpn/>



Publications

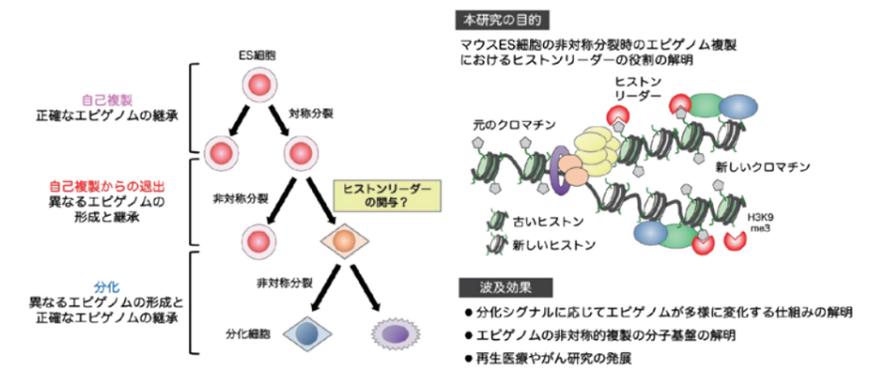
- Saito, Y., Santosa V., Ishiguro, K., *Kanemaki MT. MCBP promotes the assembly of the MCM2-7 hetero-hexamers to ensure robust DNA replication in human cells. *eLife* 11, e77393 (2022)
- Negishi T., Kitagawa S., Horii N., Tanaka, Y., Haruta, N., Sugimoto, A., Sawa, H., Hayashi, H., *Harata, M., *Kanemaki MT. The auxin-inducible degron 2 (AID2) system enables controlled protein knockdown during embryogenesis and development in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 220, iyab218 (2022)
- *Kanemaki, MT. Ligand-induced degrons for studying nuclear functions. *Curr Opin Cell Biol* 74, 29-36 (2022)
- Saito Y., *Kanemaki, MT. Targeted Protein Depletion Using the Auxin-Inducible Degron 2 (AID2) System. *Curr Protocols* 1, e219 (2021)
- Yesbolatova, A., Saito, Y., Kitamoto, K., Makino-Itou, H., Ajima, R., Nakano, R., Nakaoka, H., Fukui, K., Gamo, K., Tominari, Y., Takeuchi, H., Saga, Y., Hayashi, K., *Kanemaki, MT. The auxin-inducible degron 2 technology provides sharp degradation control in yeast, mammalian cells, and mice. *Nature Commun* 11, 5701-5701 (2020)

ヒストンリーダーによる幹細胞のエピゲノム複製機構

幹細胞のエピゲノムは、自己複製の際には正確に維持されますが、分化シグナルに対応して多様に変化します。特に、幹細胞の自己複製からの退出の際には、非対称分裂によって2つの娘細胞に異なるエピゲノムが形成・継承される必要があります。しかしながら、哺乳動物細胞の非対称分裂において、異なるエピゲノムがどのように形成・継承されるのかは明らかではありません。また、DNA 複製後のヒストンメチル化の複製に関して、ライターとリーダーの相互作用、リーダーの bridging 作用が報告されていますが、未だ不明な点が多くあります。私はこれまでに、ES 細胞の H3K9me3 の複製機構に関わる可能性のあるヒストンリーダーを同定し、ES 細胞の自己複製からの退出に重要であることも明らかにしました。そこで本研究では、マウス ES 細胞の非対称分裂時の H3K9me3 複製機構における、ヒストンリーダーの役割を解明します。具体的には、ヒストンリーダーの複製フォークへの集積・共局在因子の同定・新生クロマチン上の H3K9me3 修飾への影響を明らかにします。本研究によって、非ゲノム情報の複製機構におけるヒストンリーダーの重要性が示されるだけでなく、分化シグナルに応じてエピゲノムが多様に変化する仕組みの解明、エピゲノムの非対称的複製の分子基盤の解明に繋がることを期待されます。



研究代表者
服部 奈緒子
国立がん研究センター研究所
研究員
nhattori@ncc.go.jp
<https://researchmap.jp/naokohattori>



Publications

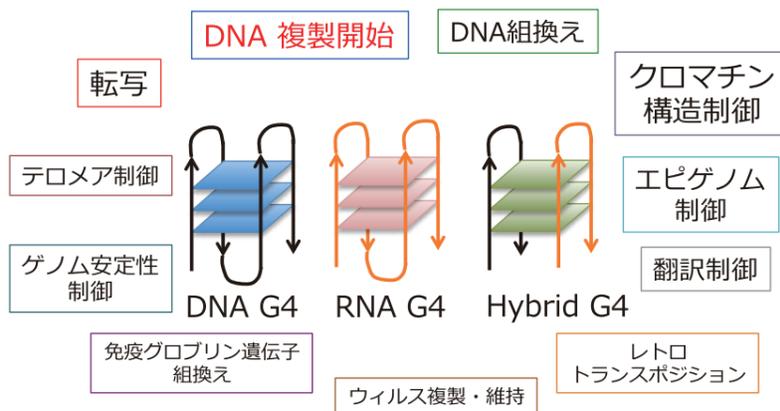
- *Hattori, N., et al., *Ushijima, T. Combination of a synthetic retinoid and a DNA demethylating agent induced differentiation of neuroblastoma through retinoic acid signal reprogramming. *Br J Cancer* 125, 1647 (2021)
- Hattori, N., et al., *Ushijima, T. Novel prodrugs of decitabine with greater metabolic stability and less toxicity. *Clin Epigenetics* 11, 111(2019)
- Zong, L., †, Hattori, N., † et al., *Ushijima, T. *LINC00162* confers sensitivity to 5-aza-2'-deoxycytidine via modulation of an RNA splicing protein, HNRNP11. *Oncogene* 38, 5281 (2019) †Equally contributed.
- Hattori, N., et al., *Ushijima, T. Visualization of multivalent histone modification in a single cell reveals highly concerted epigenetic changes upon differentiation of embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res* 41, 7231 (2013)
- Hattori, N., et al., *Shiota, K. Epigenetic control of mouse Oct-4 gene expression in embryonic stem cells and trophoblast stem cells. *J Biol Chem* 279, 17063 (2004)

エピゲノム情報としてのグアニン4重鎖の形成と複製開始における役割と生物学的意義

代表的な非 B 型 DNA 構造であるグアニン4重鎖 (G4) 構造は、生物種を問わず普遍的に存在します。最近、その細胞内での存在も証明され、生物学的機能も次々と報告されています。G4 はゲノムに内蔵されるが、配列ではなく、形成する核酸形態が重要な役割を果たします。G4 の形成と崩壊は、細胞内の環境 (イオン、分子混雑、エピゲノム) や、生体内でダイナミックに変動している可能性があり、これまで見逃されている重要な非ゲノム情報であると言えます。G4 は、転写プロモーターの近傍に濃縮されて存在することが知られていましたが、DNA 複製起点の近傍にも存在することが明らかとなり、複製開始への関与が示唆されました。私たちは長年にわたる DNA 複製の制御機構の研究から、G4 が複製を抑制するクロマチン形成の拠点として機能することを発見しました。また、大腸菌染色体複製をモデルとした研究から、RNA-DNA ハイブリッド上に形成される G4 が複製開始に重要な役割を果たす可能性を見出しました。本研究では、非ゲノム情報としての G4/RNA-DNA hybrid の細胞内でのダイナミックな形成が、DNA 複製開始を制御するメカニズムを解明し、その生物学的意義・進化的意義を検証します。さらに、このメカニズムが生物種を超えて機能する可能性・普遍性を検証します。そして、この研究から明らかになった複製開始に必要なユニットを組み合わせ、合成生物学的手法により、複製開始を最小要素から再構成することに試みます。また、G4/RNA-DNA hybrid を認識するプローブを用いて、ゲノム上 G4 シグナルを網羅的に解析し、細胞内のダイナミクスを可視化し、複製開始や転写のシグナルとの相関を解析します。



研究代表者
正井 久雄
公益財団法人東京都医学総合研究所
基礎医学研究分野・所長
masai-hs@igakuken.or.jp
<https://www.igakuken.or.jp/genome/>



G4(グアニン4重鎖)の多様な機能:
G4は多様な形態、トポロジーでDNAおよびRNAあるいはRNA-DNA hybrid上に形成され、核酸が関与する多種多様な反応を制御します。本研究では、特にRNA-DNA Hybrid上に形成されるG4構造に依存した複製開始メカニズムと生物学的意義の解明を目指します。

Publications

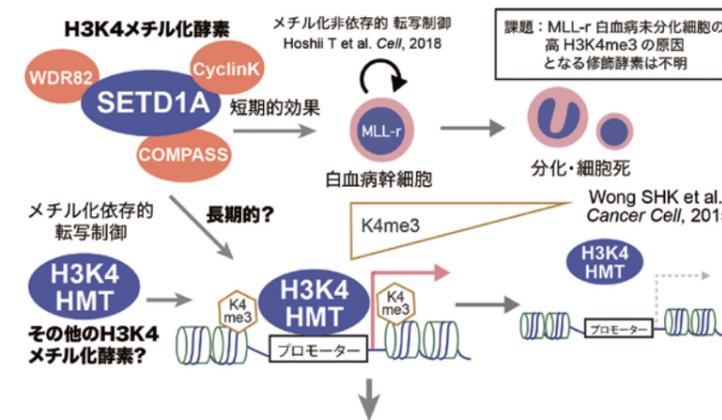
1. Kanoh, Y., et al., *Masai, H. Rif1 binds to G-quadruplexes and suppresses replication over long distances. *Nature Struct Mol Biol* 22, 889-897 (2015)
2. Yang, C.-C., et al., *Masai, H. Claspin recruits Cdc7 kinase for initiation of DNA replication in human cells. *Nature Commun* 7, 12135 (2016)
3. Yang, C.-C., et al., *Masai, H. Cdc7 activates replication checkpoint by phosphorylating the Chk1 binding domain of Claspin in human cells. *E-life* 8, pii: e50796 (2019)
4. *Masai H. et al. Detection of cellular G-quadruplex by using a loop structure as a structural determinant. *Biochem Biophys Res Commun*, 531, 75-83 (2020)
5. Yoshizawa-Sugata N, et al., *Masai H. Loss of full-length DNA replication regulator Rif1 in two-cell embryos is associated with zygotic transcriptional activation. *J Biol Chem* 297, 101367 (2021)

H3K4メチル化酵素活性による白血病非ゲノム情報複製機構の解明

エピジェネティクスでは修飾や酵素が真核生物間で非常に良く保存されていることから、酵母が高等真核生物の縮図として非常によく研究されている。一方で高等真核生物ではゲノムの肥大化と遺伝子数の増加に伴い、エピゲノム酵素は多様性を獲得しているが、その役割や意義は十分に解明されていない。例えば酵母では単一の H3K4 メチル化酵素 (HMT) である Set1 が全てのヒストン H3K4 メチル化状態を決定するが、ヒトでは 10 以上の酵素が H3K4 HMT として分類されている。逆遺伝学的解析から活性の類似した酵素も生物学的役割は大きく異なることが明らかとなってきた (Sugeedha J et al. 2020, Epigenetics)。MLL 転座型急性骨髄性白血病の再発に関わる未分化型白血病細胞ではヒストン H3K4 トリメチル化の著しい亢進が認められる (Wong SHK et al. 2015, Cancer Cell)。申請者は shRNA ライブラリによる機能性 H3K4 HMT 複合体解析から、酵母 Set1 と最もドメイン構造の類似した KMT2F (SETD1A) が白血病細胞の生存と未分化性維持に必須であることを見出した (Hoshii T. 2018, Cell)。しかしながら、白血病細胞においては KMT2F のメチル化活性よりも新規機能ドメイン (FLOS) と Cyclin K との結合が HMT 活性非依存的に転写を制御することを報告した。KMT2F FLOS ドメインの機能的な重要性から生体内白血病幹細胞制御における長期的な HMT 活性の役割は十分に解析出来ていない。そこで、本研究では in vivo 白血病で働く H3K4 HMT を機能的に評価する。In vivo で高い H3K4 メチル化の原因となる酵素を同定し、機能ドメイン解析結果から非ゲノム情報複製機構を標的とする白血病の治療標的創出を目指す。



研究代表者
星居 孝之
千葉大学大学院医学研究院・講師
hoshiit@chiba-u.jp
https://www.m.chiba-u.ac.jp/class/moloncol/staff_hoshii.html



H3K4メチル化酵素活性による白血病非ゲノム情報複製機構の解明

Publications

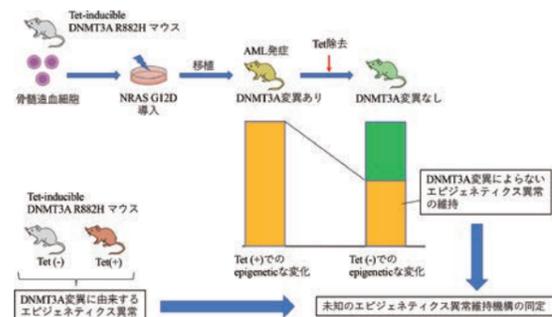
1. Tadokoro, Y., Hoshii, T., et al., Spred1 Safeguards Hematopoietic Homeostasis against Diet-Induced Systemic Stress. *Cell Stem Cell*, 22, 713 (2018)
2. Hoshii, T., et al., Armstrong, SA., A non-catalytic function of SETD1A regulates Cyclin-K and the DNA damage response. *Cell*, 172, 1007 (2018)
3. Hoshii, T., et al., Hirao, A., Loss of mTOR complex 1 induces developmental blockage in early T-lymphopoiesis and eradicates T-cell acute lymphoblastic leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111, 3805 (2014)
4. Hoshii, T., et al., Hirao, A., mTORC1 is essential for leukemia-propagation but not stem cell self-renewal. *J Clin Invest*, 122, 2114 (2012)
5. Naka, K1, Hoshii, T1., et al., TGF-beta-FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature*, 463, 676 (2010)

白血病の非ゲノム複製機構に着目した 新規治療標的の探索

急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia; AML) はさまざまな遺伝子変異が病態に寄与することが知られている。近年、AML でみられる遺伝子異常によるクローン性造血が AML 発症以前に生じており、とくにエピジェネティクス修飾にかかわる DNMT3A, ASXL1, TET2 遺伝子などの異常がこのクローン性造血において高頻度に見られることが明らかになった。なかでも DNMT3A 変異は全体の半数近くを占める。このような疫学的な知見の集積にもかかわらず、DNMT3A 変異が AML の病態形成において果たす役割や治療標的としての DNMT3A の意義に関しては不明な点が多い。DNMT3A 変異は一般に単独では白血病原性が十分でなく、AML 発症には付加的なドライバー遺伝子異常を必要とするが、DNMT3A 変異が生み出す多様なエピジェネティック異常のうち、どれが発症後の AML の維持や進展に必要なかは明らかではない。DNMT3A 変異によって生じたエピジェネティクス異常のうち、DNMT3A を正常化しても、付加的な遺伝子異常の存在下で非ゲノム複製機構により保持されるエピジェネティクス修飾が存在する可能性があり、このような異常こそ、DNMT3A 変異陽性 AML の病態形成に重要な役割を果たすと推測できる。

本研究では、DNMT3A 変異により生じたエピジェネティックな変化が、発症後の AML においては DNMT3A によらない未知の機構により強固に維持され、AML の維持に決定的な役割を果たしているという仮定のもと、その標的となっている遺伝子群を探索し、最終的には DNMT3A 変異陽性 AML において特異性が高い治療標的を新規に同定することを目的とする。具体的には、テトラサイクリン誘導性に変異型 DNMT3A を発現するトランスジェニックマウスの骨髄細胞に NRAS G12D などの付加的な白血病遺伝子を導入し、AML 発症後に変異型 DNMT3A をサイレンスしたときの AML の状態を解析する。DNMT3A 変異によって生じたエピジェネティクス異常のうち、AML において DNMT3A 変異を消失させても不可逆的である異常を同定する。その異常の標的となっている遺伝子の発現や遺伝子産物の活性を制御する手法を開発し、DNMT3A 変異陽性 AML に対する新たな治療法の基盤を創出する。このように、本研究において

エピジェネティクス異常を維持する未知の機構を同定することにより、DNMT3A 変異陽性 AML の病態解明に寄与するだけでなく、非ゲノム複製機構と疾患の関連性を明らかにし、新しい視点にもとづく治療の実現に近づくことが期待される。



研究代表者

黒川 峰夫

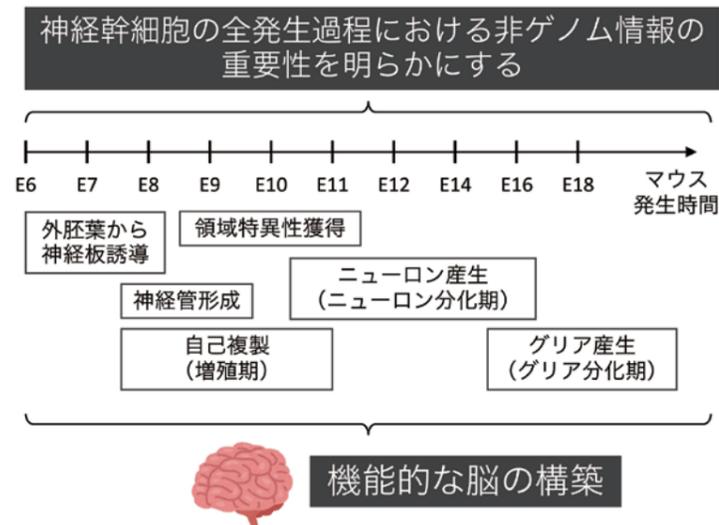
東京大学医学部附属病院
血液・腫瘍内科・教授
kurokawa@m.u-tokyo.ac.jp
kurokawa-ky@umin.ac.jp

<https://researchmap.jp/read0060993>

神経幹細胞の全発生過程における 非ゲノム情報制御の重要性の解析

幹細胞は、発生初期には自己複製によりその数を増やし、あるタイミングになると分化細胞を産生します。すなわち、複製・維持されている非ゲノム情報を、あるタイミングで変換することで、適切な組織を構築することができます。

大脳を構築する大脳神経幹細胞は、エピプラスト (胚盤葉上層) から誘導された外胚葉が神経板となり、続いて管状の神経管を形成し、そして最も前側に位置する神経上皮細胞から分化します。このダイナミックな分化過程は、マウスだと胎生 6 日目 (E6) から E10 のわずかに 4 日間で起きます。そして、大脳神経幹細胞は E11 くらいからニューロンを、そして出生前の E18 くらいからグリア細胞であるアストロサイトを産生して、出生後に機能する大脳を構築します。この神経幹細胞の運命転換のタイミングは厳密に制御される必要があります。例えば増殖期からニューロン分化期への移行のタイミングが遅くなると、神経幹細胞の数が過剰になって脳が異常に大きくなる可能性があるからです。実際に、このタイミングの制御異常で自閉症などの発達性神経疾患を発症することが近年の研究でわかってきました。しかしながら、次々に起こる神経幹細胞の運命転換のメカニズムにはいまだ謎が多く残っています。そこで本研究では、神経幹細胞の全発生過程において、非ゲノム情報であるオープンクロマチン領域やヒストン修飾が複製・維持あるいは変換するメカニズムを包括的に明らかにすることを目指します。



研究代表者

岸 雄介

東京大学定量生命科学研究所
准教授

ykisi@iqb.u-tokyo.ac.jp
<https://www.iqb.u-tokyo.ac.jp/lab/shirahige/>

Publications

- Miyauchi M, et al., **Kurokawa M**. Efficient production of human neutrophils from iPSCs that prevent murine lethal infection with immune cell recruitment. *Blood* 138, 2555 (2021)
- Uni M, et al., **Kurokawa M**. Modeling ASXL1 mutation revealed impaired hematopoiesis caused by derepression of p16Ink4a through aberrant PRC1-mediated histone modification. *Leukemia* 33, 191 (2019)
- Masamoto Y, et al., **Kurokawa M**. Adiponectin enhances antibacterial activity of hematopoietic cells by suppressing bone marrow inflammation. *Immunity* 44, 1422 (2016)
- Koya J, et al., **Kurokawa M**. DNMT3A R882 mutant interacts with polycomb proteins to block hematopoietic stem and leukemic cell differentiation. *Nature Commun* 5, 4770 (2014)
- Kagoya Y, et al., **Kurokawa M**. NF-κB/TNF-α positive feedback loop with active proteasome machinery supports myeloid leukemia initiating cell capacity. *J Clin Invest* 124, 528 (2014)

Publications

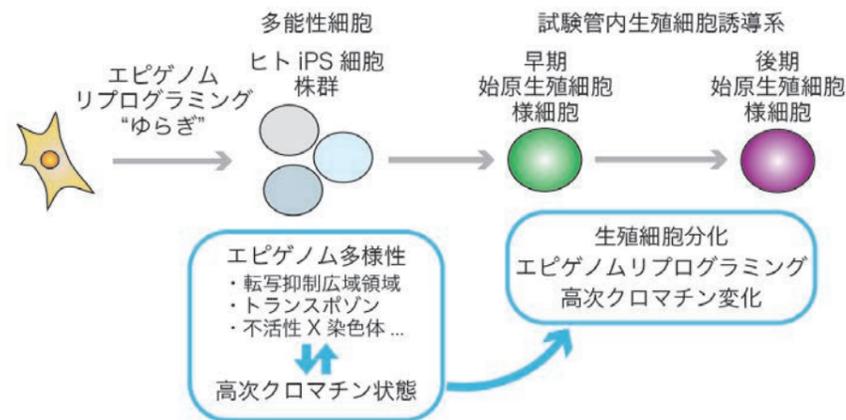
- Eto, H. and ***Kishi, Y.** Brain regionalization by Polycomb-group proteins and chromatin accessibility. *BioEssays*, 43(11):e2100155 (2021)
- Eto, H., ***Kishi, Y.**, et al. The Polycomb group protein Ring1 regulates dorsoventral patterning of the mouse telencephalon. *Nature Communications*, 11:5709 (2020)
- Sakai, H., et al., ***Kishi, Y.** Plag1 regulates neuronal gene expression and neuronal differentiation of neocortical neural progenitor cells. *Genes to Cells*, 24(10):650-666 (2019)
- Tsuboi, M., ***Kishi, Y.**, et al. Ubiquitination-independent repression of PRC1 targets during neuronal fate restriction in the developing mouse neocortex. *Developmental cell*, 47, 758-772 (2018)
- Kishi, Y.**, et al. HMGA regulates the global chromatin state and neurogenic potential in neocortical precursor cells. *Nature Neuroscience*, 15, 1127-1133 (2012)

エピゲノムリプログラミングのゆらぎが生殖細胞分化に与える影響の理解

エピゲノムリプログラミングは、エピゲノム状態のゲノムワイドな変化を介して細胞の運命変化や初期化を促す生命現象であり、哺乳類の初期胚や生殖細胞の発生、さらに iPS 細胞 (人工多能性幹細胞) の樹立に重要な役割を果たす現象です。近年のクロマチン研究から、エピゲノム状態の維持および変化は、クロマチンの高次構造や核内動態と連動しながら協調的に制御されていることが示唆されています。しかし、リプログラミング過程で起きるゲノムワイドなエピゲノム変化と高次クロマチン動態との相互関係、さらにその後の細胞運命変化に与える影響はまだ明らかではありません。私はこれまで、ヒト iPS 細胞を起点とした試験管内始原生殖細胞誘導系の確立と、細胞株による分化傾向性の違いを解析してきました。さらに、株間比較エピゲノム解析により多様性 (不均一性) を示す領域を同定し、そのゲノム特性を解析してきました。本研究では、ヒト iPS 細胞に潜在するエピゲノム多様性領域に着目し、クロマチン高次状態との連関機序の理解を目指します。さらに、試験管内始原生殖細胞誘導分化系を用いて、多能性細胞に潜在するエピゲノム多様性が、始原生殖細胞で誘発されるエピゲノムリプログラミング過程およびその後の生殖細胞分化に与える影響を理解することを目指します。これらの研究を通じて、エピゲノムリプログラミング現象に伴う非ゲノム情報の変換および維持を協調する分子制御メカニズムの理解、さらにはエピゲノムリプログラミング過程のロバストネスの理解を目指します。



研究代表者
横林 しほり
京都大学 iPS 細胞研究所
特定拠点講師
yokobayashi@anat2.med.kyoto-u.ac.jp
https://anat.cell.med.kyoto-u.ac.jp/



Publications

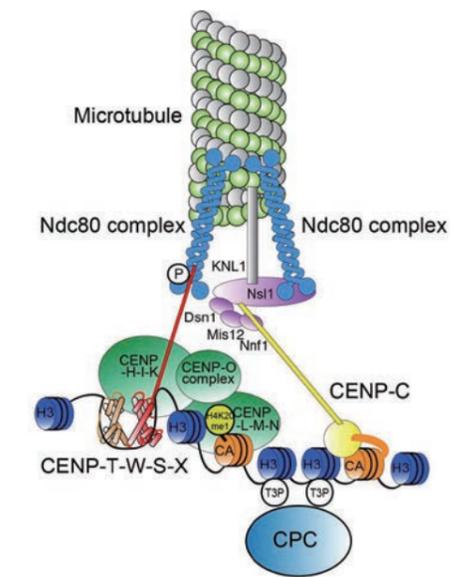
- Nagano, M., Hu, B., Yokobayashi, S., et al., *Saitou, M. Nucleome programming for the foundation of totipotency in mammalian germline development. *EMBO*, in press.
- *Yokobayashi, S., et al. Inherent genomic properties underlie the epigenomic heterogeneity of human induced pluripotent stem cells. *Cell Rep*, 37(5), 109909 (2021).
- Yamashiro, C., Yokobayashi, S., et al., *Saitou, M. Generation of human oögonia from induced pluripotent stem cells in culture. *Nat Prot*, 15, 1560-1583 (2020).
- *Yokobayashi, S. and *Saitou, M. Reconstitution of germ cell development in vitro. *Cell Biology of the Ovary*, Springer, Singapore (2018).
- *Yokobayashi, S., et al., *Saitou, M. Clonal variation of human induced pluripotent stem cells for induction into the germ cell fate. *Biol Reprod*, 96, 1154-1166 (2017).

セントロメアの維持・形成に関する非ゲノム情報

生物が生命を維持するためには、染色体が安定に複製・分配されることが必要です。真核生物における正確な染色体分配には、セントロメアと呼ばれる特殊領域が重要であり、セントロメア上に形成されるキネトコア構造と紡錘体微小管との適切な結合が、正確な染色体分配に必須となります。興味深いことに、多くの生物のセントロメアは、塩基配列による“ゲノム情報”では規定されず、エピジェネティックな“非ゲノム情報”によって規定されます。CENP-Aと呼ばれるセントロメアに特異的なヒストンがエピジェネティックな目印として働いていると考えられてはいますが、セントロメアを規定するための“非ゲノム情報”の実体については不明な点が多いです。研究代表者の深川は、これまでに、セントロメア及びキネトコアタンパク質の同定やその機能・構造解析、セントロメアゲノムの配列解明などの研究成果をあげてきましたが、その知識をベースに、本研究においては、セントロメアが形成される際に必要な“非ゲノム情報”の実体の解明を目指します。特に、ネオセントロメアと3C、4C、Hi-C法などのゲノム解析技術を組み合わせ、セントロメアクロマチンのコンパクトさを立証します。その上で、このコンパクトなクロマチン構造が形成されるための分子機構とその生物学的意義を、構造生物学、細胞生物学、ゲノム工学を併用して明らかにします。



研究代表者
深川 竜郎
大阪大学大学院生命機能研究科
教授
tfukagawa@fbs.osaka-u.ac.jp
https://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/fukagawa/index_j.html



セントロメア領域に形成されるキネトコア構造の模式図

Publications

- Ariyoshi, M., et al., *Fukagawa, T. Cryo-EM structure of the CENP-A nucleosome in complex with phosphorylated CENP-C. *EMBO J* 40, e105671 (2021).
- Watanabe, R., et al., *Fukagawa, T. CDK1-mediated CENP-C phosphorylation modulates CENP-A binding and mitotic kinetochore localization. *J Cell Biol* 218, 4042-4062 (2019).
- Hara, M., et al., *Fukagawa, T. Multiple phosphorylations control recruitment of the KMN network onto kinetochores. *Nature Cell Biol* 20, 1378-1388 (2018).
- Hori, T., et al., *Fukagawa, T. Association of M18BP1/KNL2 with CENP-A Nucleosome Is Essential for Centromere Formation in Non-mammalian Vertebrates. *Dev Cell* 42, 181-189 (2017).
- Nishino, T., *Fukagawa, T., et al. CENP-T-W-S-X Forms a Unique Centromeric Chromatin Structure with a Histone-like Fold. *Cell* 148, 487-501 (2012).

肝再生における非ゲノム情報の変遷と回帰の加齢依存的変化の解明

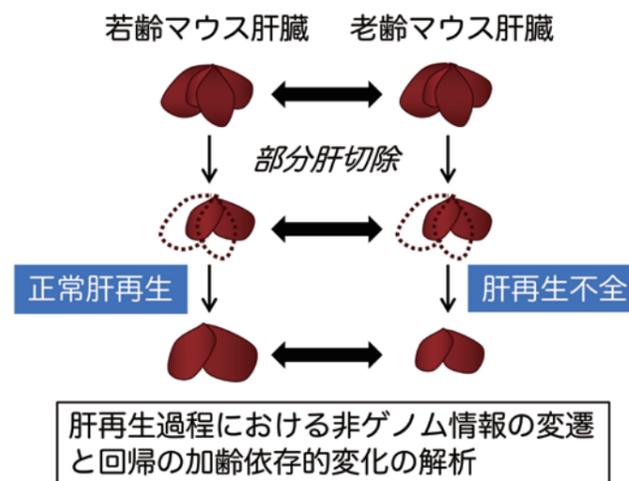
加齢に伴って組織・臓器の恒常的機能は低下し、同様に損傷後の再生能も低下します。これは誰もが老いとともに感じるありふれた事象ですが、加齢に伴う組織再生能の低下は疾病の発症にも関係することから、その理解や制御は我々が健康体で生活を送れる「健康寿命」を充実させ、それを延ばす意味でも大変重要です。一生を通じて代謝中枢的な役割を担い続ける肝臓は、古くから高い再生能をもつことで知られていますが、その肝臓も例外ではなく、加齢によってその再生能が低下することが50年以上も前から知られています。しかし、加齢に伴う肝再生能の低下がどういった分子機構によって制御されているのかは未だによくわかっていません。そこで本研究では、加齢に伴う肝再生能の低下を肝細胞に生じる非ゲノム情報の変遷と回帰の加齢依存的な変化として捉え、そのメカニズムの解明から肝臓の再生原理究明を目指します。本研究により、加齢に伴う肝再生能の低下を分子レベルでより深く理解することができれば、個体老化に基づく肝再生不全を基盤としてそこに様々なファクター（肥満やアルコールの過剰摂取など）が加わって生じる疾患（脂肪肝やアルコール性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎など）の発症機序の解明や診断、治療法の開発にも貢献できると考えられます。



研究代表者

鈴木 淳史

九州大学 生体防御医学研究所
器官発生再生学分野・教授
suzukicks@bioreg.kyushu-u.ac.jp
<https://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/labo/orgreg/top.html>



Publications

- Inada H, et al., *Suzuki A. Direct reprogramming of human umbilical vein- and peripheral blood-derived endothelial cells into hepatic progenitor cells. *Nature Commun* 11(1):5292 (2020)
- Horisawa K, et al., *Suzuki A. The dynamics of transcriptional activation by hepatic reprogramming factors. *Molecular Cell* 79(4):660-676 (2020)
- Yamamoto J, et al., *Suzuki A. Cell aggregation culture induces functional differentiation of induced hepatocyte-like cells through activation of Hippo signaling. *Cell Reports* 25(1):183-198 (2018)
- Miura S and *Suzuki A. Generation of mouse and human organoid-forming intestinal progenitor cells by direct lineage reprogramming. *Cell Stem Cell* 21(4):456-471 (2017)
- Sekiya S and *Suzuki A. Direct conversion of mouse fibroblasts to hepatocyte-like cells by defined factors. *Nature* 475(7356):390-393 (2011)

多能性を規定するエンハンサーループの維持と再構築機構の解明

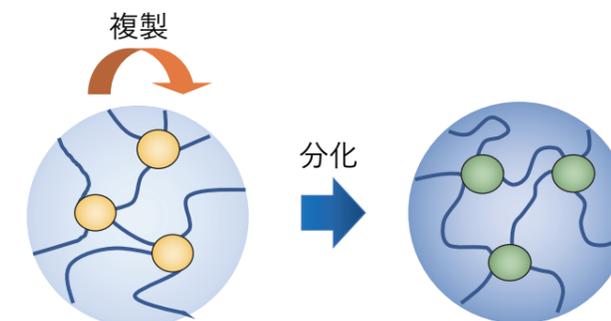
造血幹細胞や多能性幹細胞に代表される「幹細胞」は、自己複製と分化能という2つの性質を持ちます。自己複製を続ける幹細胞が分化細胞へと転じるには、それまで維持していた「非ゲノム情報」を迅速かつ正確に変換する必要があります。胚性幹細胞 (ES 細胞) の場合、OCT4 をはじめとする転写因子の結合パターンが多能性の維持に不可欠です。一般に、転写因子が結合するエンハンサー領域は、三次元的なループ構造を形成し、細胞分裂後もその形状が維持されると考えられています。しかしながら ES 細胞においては、OCT4 に依存するループ構造は自己複製時には堅牢に維持されながらも、細胞分化に応じて柔軟に変化しなければなりません。ループ構造の制御には、幹細胞特異的な高次クロマチン構造の変化が関与すると考えられていますが、その分子メカニズムについてはよく分かっていません。そこで本研究では、幹細胞特異的な「エンハンサーループ」を非ゲノム情報として捉え、その継承と分化時における再構築機構の解明を目的とします。本研究では、これまでの2次元的な実験結果を踏まえて、高次クロマチン構造解析に発展させ、転写因子の結合、配置、解離のタイミングそして分化における再配置を調節する分子機構の解明を目指します。



研究代表者

秋山 智彦

横浜市立大学医学部・助教
akiyama.tom.pd@yokohama-cu.ac.jp
<https://researchmap.jp/tomoakiyama>



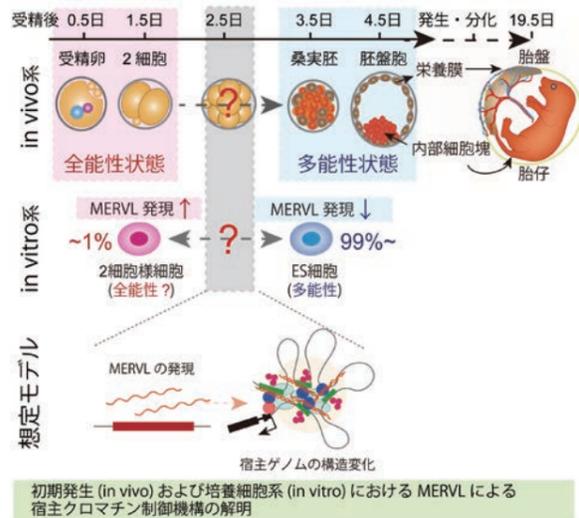
幹細胞特異的な「エンハンサーループ」を非ゲノム情報として捉え、その継承と分化時における再構築機構の解明を目的とする

Publications

- *Akiyama, T., et al. Synthetic mRNA-based differentiation method enables early detection of Parkinson's phenotypes in neurons derived from Gaucher disease-induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Trans Med.* 4, 572-581 (2021)
- *Akiyama, T., et al., *Ko, MSH. Transient ectopic expression of the histone demethylase JMJD3 accelerates the differentiation of human pluripotent stem cells. *Development* 143, 3674-3685 (2016)
- Akiyama, T., et al., *Ko, MSH. Transient bursts of Zscan4 expression are accompanied by the rapid derepression of heterochromatin in mouse embryonic stem cells. *DNA Res.* 5, 307-318 (2015)
- Akiyama, T., et al., *Aoki, F. Dynamic replacement of histone H3 variants reprograms epigenetic marks in early mouse embryos. *PLoS Genet.* 7, e1002279 (2011)
- Akiyama, T., et al., *Aoki, F. Inadequate histone deacetylation during oocyte meiosis causes aneuploidy and embryo death in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103, 7339-7344 (2006)

内在性レトロウイルスによる宿主ゲノムのクロマチン再構築機構

内在性レトロウイルス (Endogenous RetroViruses: ERVs) は、生物進化の過程で宿主ゲノムに組み込まれたレトロウイルス感染の痕跡であり、宿主の進化および生物多様性の獲得に重要な機能を果たしたと考えられています。ERVs は宿主の転写機構を利用した転移活性により、ゲノム上の多数の箇所数百コピー以上散在しています。この特性から、ERVs は宿主のゲノム構造を破壊する変異原として機能しうるため、ほとんどの体細胞組織では DNA メチル化および抑制的ヒストン修飾を介して強固な不活性化を受けることが知られています。一方で、生殖巣および胎盤といった特定の組織において ERVs の転写活性がむしろ亢進しており、私はこの生理的意義に着目しています。実際に、精巣において ERVs の転写が宿主細胞の分化・発達および機能維持に重要な役割を持つことを報告しています (論文 3, 4)。興味深いことに、本研究で対象とする受精後の初期発生においても多様な ERVs の発現惹起が観察されています。中でも MERVL は全能性をもつ 2 細胞期胚特異的に高発現する ERVs の 1 種です。これまで MERVL はその発現細胞が全能性を保有するかどうか識別するための「全能性マーカー」として繁用されてきましたが、その機能的意義は技術的な制約により未解明でした。本研究では、独自に開発した多コピー遺伝子解析技術を用いることで、初期発生における MERVL の機能解明を目指します。特に、全能性期特異的な MERVL の発現がその後の個体発生プログラムを担保する高次クロマチン構造の構築に寄与すると想定し、この機能に着目して研究を展開します。本研究の遂行により、MERVL の転写制御という新たな観点から、初期胚発生に伴う宿主ゲノムのクロマチン複製とリモデリング機構の新たな制御モデルが提唱できることが期待されます。



研究代表者
坂下 陽彦
慶應義塾大学医学部・助教
asakashita@keio.jp
http://siomilab.med.keio.ac.jp/?page_id=28/

Publications

1. Sakashita A., et al., Namekawa SN. Bioinformatics pipelines for identification of super-enhancers and 3D chromatin contacts. *Methods Mol Biol.* In press
2. Sakashita A., et al., Namekawa SN. CRISPR-mediated activation of transposable elements in embryonic stem cells. *Methods Mol Biol.* In press
3. Sakashita A., et al., Namekawa SN. Endogenous retroviruses drive species-specific germline transcriptomes in mammals. *Nat Struct Mol Biol.* 10 (2020)
4. Maezawa S., Sakashita A., et al., Namekawa SN. Super-enhancer switching drives a burst in gene expression at the mitosis-to-meiosis transition. *Nat Struct Mol Biol.* 10 (2020)
5. Sakashita A., et al. Kono T. XY oocytes of sex-reversed females with a Sry mutation deviate from the normal developmental process beyond the mitotic stage. *Biol Reprod* 100 (2019)

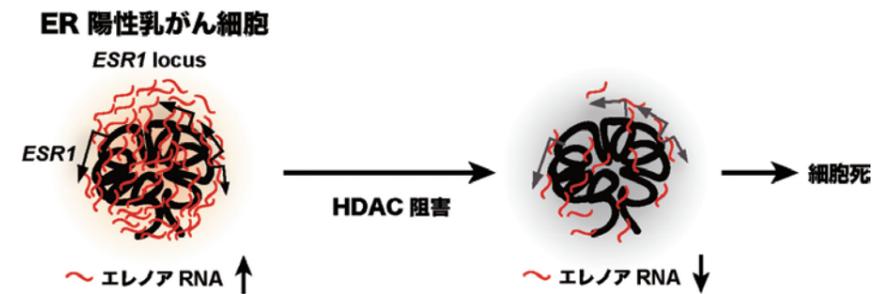
ヒストン化学修飾とヒストンバリエーションによる協調した転写制御機構の解明

約 70% の乳がんはエストロゲン受容体 (ER) を発現しており、その増殖に ER の機能が必要です。そのため、ER の基質となるエストロゲンの産生を抑制するホルモン療法が ER 陽性乳がんには有効です。しかし、ホルモン療法を継続していく過程においてホルモン療法耐性となりがん細胞が再び増殖を始めることが知られています。我々は、この再発乳がん細胞において ER をコードする ESR1 遺伝子座近傍に非コード RNA エレノアが塊 (クラウド) を形成していることを報告しています。また、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤を処理することで (アセチル化修飾が増える) エレノアクラウドが消失し、細胞死に至ることを明らかにしています。このことから、ER 陽性乳がん細胞においてヒストンの脱アセチル化依存的に転写が制御される遺伝子群が存在することが分かります。しかし、その転写制御機構は不明です。本研究では、HDAC により制御される転写制御機構を明らかにします。本研究は、転写制御機構の解明につながり、細胞のがん化だけではなく遺伝子発現プロファイルの変化する生命現象 (発生、分化、外部刺激に対する応答など) の理解につながることを期待されます。



研究代表者
立和名 博昭
公益財団法人がん研究会
がん研究所 がん生物部・研究員
hiroaki.tachiwana@jfc.or.jp
https://www.jfcr.or.jp/laboratory/department/cancer_biology/www/default.htm

HDAC 依存的な新規転写制御機構の解明



Publications

1. Tachiwana, H., Dacher, M., et al., Chromatin structure-dependent histone incorporation revealed by a genome-wide deposition assay. *eLife* 10, e66290 (2021)
2. Takizawa, Y., Tachiwana, H., et al., Cryo-EM Structures of Centromeric Tri-nucleosomes Containing a Central CENP-A Nucleosome. *Structure* 28, 44-53 (2020)
3. Tachiwana, H., Müller, S., et al., HJURP involvement in de novo CenH3(CENP-A) and CENP-C recruitment. *Cell Rep.* 11, 22-32 (2015)
4. Tachiwana, H., Kagawa, W., et al., Crystal structure of the human centromeric nucleosome containing CENP-A. *Nature* 476, 232-235 (2011)
5. Arimura, Y., Tachiwana, H., et al., The CENP-A centromere targeting domain facilitates H4K20 monomethylation in the nucleosome by structural polymorphism. *Nat Commun.* 10, 576 (2019)

第13回新学術領域「非ゲノム情報複製」Webiner開催 (ホスト 北村) 2022年1月19日

演者：半田 宏博士 (東京医科大学ケミカルバイオロジー講座)
 タイトル：サリドマイド催奇性のターゲット Cereblon の発見から創薬への展開

2022年度 第1回総括班会議をオンラインで実施 2022年5月13日

本領域の後半の活動方針、班会議開催、国際シンポジウムの開催などについて議論しました。

第55回発生生物学会大会「非ゲノム情報複製」共催シンポジウムを開催 2022年6月1日

場所：金沢 (世話人 熊大・石黒) 本領域からは、石黒が発表しました。

第15回エピジェネティクス研究会年會を共催 (九州大学の百年講堂)

2022年6月9～10日

班員の鷗木が企画したセッションで、鷗木、深川、西山 (中西班)、有田が講演しました。佐々木 (総括班) が特別講演を行い、油谷は次回年會長講演を行いました (次回は 2023 年 6 月 19～20 日、一橋講堂)。その他にも班員や班員が指導する多くの大学院生が参加し、ポスター発表を行ったり、積極的に質疑応答に参加して、エピジェネティクスへの知見を深めました。

第74回日本細胞生物学会大会「非ゲノム情報複製」共催シンポジウムを開催

2022年6月28日

タワーホール船堀で開かれた第 74 回日本細胞生物学会大会を共催し、班員の石黒が主催するシンポジウム「非ゲノム複製機構による生命現象」で、藤、遠藤 (丹羽班)、横林、鷗木、秋山、石黒が講演しました。久しぶりの現地開催のみで、質疑応答も活発で、メンバー間のディスカッションも弾み、大変有意義なひと時でした。

The Convergence



油谷 浩幸
 (東京大学先端科学技術研究センター)

表題の Convergence (収束) はやや聞き慣れない用語ですが、遺伝子の転写の方向に関する話題ではなく、2018 年秋に開催された AACR (米国癌学会) の special conference の 30 周年カンファランスのテーマに使われていました。ちなみにカンファランスを企画した MIT の Phillip Sharp は私が留学した Housman 研究室の隣の研究室で Baltimore 研、Weinberg 研を合わせた 4 研究室合同で floor meeting を行っていました。1993 年にノーベル生理学・医学賞を受賞され、カンファランス開催当時に 74 歳になっていましたが、AI, Big Data, and Prediction in Cancer というこれからのがん研究の方向性を議論するカンファランスを最前列でセッション進行も務めていたのが印象的でした。

さて私とエピゲノムの馴れ初めですが、NGS 登場以前のやや古い話になります。1999 年に現在の研究室を開設するに際してマイクロアレイによる遺伝子発現プロファイリングを用いて、疾患に特徴的な発現遺伝子の同定や症例層別化に着手しました。この頃必要に迫られて機械学習を勉強させられました。ちなみにリファレンスとして収集したヒト正常組織の遺伝子発現データは論文文化もせず HP で公開しましたので結構なアクセス数があり、研究者コミュニティに対しては私の研

究歴の中でも最大の貢献だったかもしれません。SNP アレイを用いたアレル別遺伝子発現やタイリングアレイを用いた ChIP-chip 解析に取り組み、たまたま実験系の立ち上げに行っていた CTCF と白髪研の Cohesin の ChIP データが著しくオーバーラップすることに気づいたのが現在のクロマチンループ研究の端緒となりました。昨今更に言われているデータ駆動型研究の良い事例だったと思います。

2007 年に NGS 技術が商用化され、研究室にも Genome analyzer 1G を導入し、RNA-seq や ChIP-seq によるエピゲノム解析を大規模にすすめることになりました。2010 年からはエピゲノム創薬をテーマに NEDO プロジェクトのプロジェクリーダーを務めることになりましたが、「エピゲノム」では理解してもらえないとダメ出しされて「後天的ゲノム修飾」というプロジェクト名にされたのも今となっては思い出の一つです。

マイクロアレイ、NGS という disruptive な技術を用いて生命現象の解明に取り組んできましたが、第 3 の技術革新ともいべき一細胞解析によって、いまや個体間、細胞間、時系列など多様なデータポイントでのオミックスデータの収集が可能となりました。エピゲノム複製を含め、多細胞生物の複雑な生命現象を理解するためには一細胞解像度での観測は必須

といえましょう。がんゲノム、エピゲノムにおける国際連携では我が国も一定の貢献をしてきたように思いますが、一細胞解析や空間解析に関する領域においては残念ながらプレゼンスが高いとは言えない現状があります。新たな解析技術基盤の構築と産出される大量のデータ処理には AI を含めたデータサイエンス戦略が必要であり Convergence (技術融合) を意識することの重要性を痛感しています。レガシーにとらわれずに目的実現のための研究環境を整え、異分野の研究者の連携を上げていくことは今後の我が国のサイエンスの水準を高めるために急務だと思います。この新学術領域には、「ガラバゴス」(研究者の楽園) さながら多様な専門性を有する研究者が集まっており、公募班員には一細胞研究に取り組んで来られた若手も多数おられますので、8 月の領域会議が待ち遠しい限りです。

末筆ながら、新型コロナによるパンデミックのさなかに定年を迎えましたが、教授会や学位審査から解放され、東大先端研のシニアリサーチフェロー (特任研究員) として、研究活動をエンジョイしております。はからずも次回のエピジェネティクス研究会の年會幹事を務めることになり、The Convergence: technology, data and epigenetic research を年會テーマとして 2023 年 6 月 19 日、20 日の 2 日間、一橋講堂で開催すべく準備を開始したところです。現在、当領域を始め複数のエピゲノム関連の新学術および学術変革領域が進行中であり、多くの研究者の方々のご参加をお待ちしております。

Awards / Human Resources 受賞・人事

受賞

2022.04

熊本大学発生医学研究所の石黒啓一郎先生が令和4年度文部科学大臣表彰 科学技術賞（研究部門）を受賞されました。業績「生殖細胞における減数分裂誘導機構の研究」

受賞

2022.04

東京大学先端科学技術研究センターの油谷浩幸先生が令和4年度文部科学大臣表彰 科学技術賞（研究部門）を受賞されました。業績「1細胞解析による心不全の病態 解明と精密医療に関する研究」

受賞

2022.06

東京大学医科学研究所・北村班の藤野赴至さんが東京大学医師会医学賞を受賞されました！

Schedule 今後の活動予定

第5回領域会議

日時：2022年8月1～3日（世話人 北村）

場所：舞子

日本生化学会 共催シンポジウム

日時：2022年11月9～11日（世話人 横市大 有田・東大 西山）

場所：名古屋

日本分子生物学会 共催シンポジウム

日時：2022年11月30日～12月2日（世話人 横市大 有田・横市大 仙石）

場所：幕張

新学術領域研究

「多様かつ堅牢な細胞形質を支える非ゲノム情報複製機構」

RNG Newsletter

第6号 2022年7月発行

編集人 石黒 啓一郎

発行人 中西 真

発行所 非ゲノム情報複製ニュースレター編集室

東京大学医科学研究所

癌・細胞増殖部門 癌防御シグナル分野

〒108-8639 東京都港区白金台461

TEL 03 5449 5341

E-mail mkt.naka@ims.u.tokyo.ac.jp

印刷所 株式会社トライス

<https://non-genome.com>