

科学研究費助成事業「新学術領域研究（研究領域提案型）」 研究概要
〔令和2年度事後評価用〕

令和2年6月30日現在

機関番号：12601
 領域設定期間：2015～2019
 領域番号：
 研究領域名（和文）染色体オーケストレーションシステム
 研究領域名（英文）Chromosome Orchestration System
 領域代表者
 白髭 克彦（Shirahige, Katsuhiko）
 東京大学・定量生命科学研究所・教授
 研究者番号：90273854
 交付決定額（領域設定期間全体）：（直接経費）1,205,400,000円

研究成果の概要

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。

研究分野：ゲノム情報

キーワード：染色体高次構造 染色体機能 ゲノム情報 染色体構築

1. 研究開始当初の背景

染色体は生命現象の中核に位置する存在である。遺伝情報の読み出しと継承のための諸反応（転写、複製、修復、凝集・分配等）が染色体上では並列かつ協調的に遂行されている。申請者はこれら諸反応の様相を、生体内の染色体丸ごと1セットの上での動態として網羅的かつ高解像度に可視化するシステムを構築し、染色体研究に新たな視座を導入することに成功してきた。特に、ヒトなどの長大かつ複雑な染色体を対象とした網羅的染色体研究を展開するため超並列DNAシーケンサーを活用した実験技術、情報解析両面の基盤を確立し、発生やがん、先天性疾患に直結する核内因子の機能を解き明かす研究成果を上げた。これら一連の研究からは、染色体高次構造を足場とする染色体諸機能の連携機構、染色体オーケストレーションシステムを理解することの重要性が浮上していた。

2. 研究の目的

染色体は生命の本質である。これまでの研究から、転写、複製、組換え、分配、エピゲノム修飾といった個別の染色体機能についての理解は深まりつつある。しかし、これからの染色体生物学の課題は、染色体の諸機能がどのように連携しているのか、それらが様々な生物学的過程においてどのように経時変動していくのか、を解き明かすことにある。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す。本研究が提供する技術情報基盤は、創薬、再生医療も含めた我が国の生命科学研究全般のさらなる発展に資することが期待される。本研究の発展には計画研究に加え、多種多様な背景を持つ研究者が公募研究として参画することが重要である。総括班では5年間という期間の中で、個々の計画研究および公募研究の円滑な推進、各研究の有機的連携の促進、研究成果の国民に向けた発信、人材育成（実験生物学と情報生物学の両方に長けた研究者）を行い、領域の成果を日本発の研究成果として世界に向けてアピールする。

3. 研究の方法

新学術領域「染色体 OS」では、染色体が調和して機能する仕組みを「染色体オーケストレーションシステム（染色体 OS）」と定義し、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する。効率的な運営のため、総括班のもとに2つの班、「A01: 3D 構築班」と「A02: 4D 情報班」を設定した。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。

特に総括班では、異分野の研究者が十分な連携の元で研究を推進するために、それに必要となる環境整備、情報収集、広報活動を行った。また、各計画研究と公募研究の統括、評価を行うとともに、小委員会を設置して運営の効率化を図った。特に染色体研究分野で突出した成果を上げている海外研究者を領域評価者として4名配置、日本人領域評価者3名とともに、領域運営の補助にあたり、班会議の半分を海外で開催することで、4人の外国人アドバイザーの意見を積極的に受けるとともに、日本の若手研究者、海外の研究者が多く参加した。

4. 研究の成果

以下の3つの成果が主たるものとして挙げられる。

1) 染色体 OS 情報プラットフォームの構築

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1）、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）」とより構成される（図2）。

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）により独立に開発

されてきたものであり、引き続き単体でも機能する。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り、染色体 OS 班員以外にも広く公開されている。

染色体 OS 情報プラットフォームは、本研究領域終了後の保守・維持体制を考慮し、東京工業大学のサーバから東京大学・医学研究所ヒトゲノム解析センターが運用

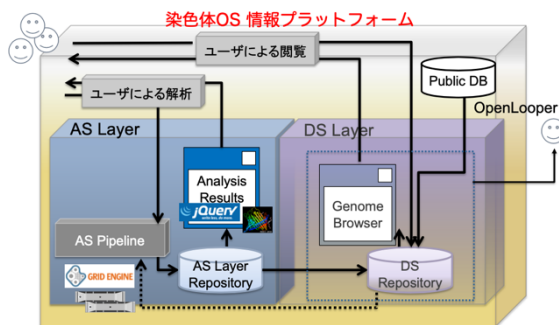


図1. 染色体 OS 情報プラットフォーム全体像

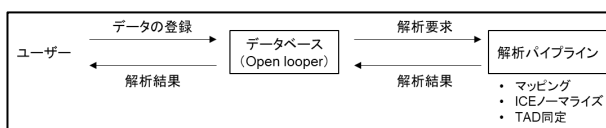


図2. 解析パイプライン・Web アプリケーションの全体像

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/> より公開されている。

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。これらの結果の中からTADの抽出結果は Open looper 上で閲覧が可能である（図

3）。OpenLooper は、データレポジトリシステムとして以下の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。すなわち、ユーザー間のデータシェアリングをシームレスに実現するセキュアな環境を提供し

(Sharable)、NGS データはもちろん、多様な関連データが扱える情報基盤を提供し

(Scalable)、持続的なサービス

(Sustainable) を簡便な GUI で

提供する (Simple)。本構想を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SHIROKANE に実装し (Sustainable)、電子メールとインタラクティブな GUI を介したユーザー管理とデータ登録機能 (Simple)、固有識別子による登録データの管理、データ所有者の操作によるデータ・注釈共有 (Sharable) などの機能を組み込んだ。これらの機能は、共同研究と成果の一般公開を容易にする情報基盤であり、様々なツールと多様なデータが効率的に実装・管理することができる (Scalable)。実際、ユーザー登録の NGS データから混入微生物検出を行っている OpenContami パイプラインの提供、計画班の 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た。研究開発期間中、領域内外の共同研究に本システムを積極的に用いてテストと改良作業を重ねてきたものである。現在、領域内外の RNA-seq, ChIP-seq, ATAC-seq, WGBS, Hi-C, Pore-C などのデータを登録・共有した。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おり、今後も拡充させていく予定である。本情報プラットフォームは各班員にフィードバックされ、例えば深川、白髭、平野、荒木、広田らは、それぞれの研究対象の染色体機能についての理解を深めるとともに、再構成系に用いる領域、部位、を抽出し、また、vivo の染色体構造と vitro の染色体構造の比較、検討を行った (Nat. Commun., 2015, Curr. Biol. 2015, 2018, J. Cell Biol., 2017, 2019, Nat. Cell Biol., 2018 等)。

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) を活用し (Biophysical Journal, 2020)、解析結果の公開機能および、ユーザのデータに基づいて、プラットフォーム上で解析した Hi-C データから、4D modeling を実現する機能の組み込みを進めた。今年度内に公開を目指している。また、情報プラットフォーム上で研究者が円滑に情報をやり取り可能なシステムも組み込む予定である。

2) モデル染色体の構築と検証

in vivo 実験と染色体 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。そういった複数機能の連携を検証するための 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への長年の取り組みから自らの発見である 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 を含むわずかに 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

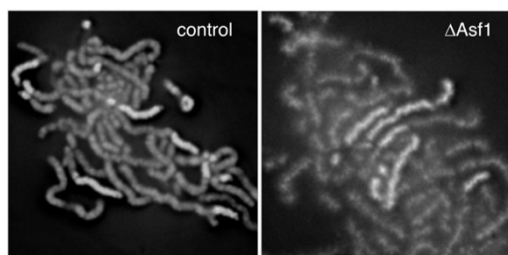


図4 スクレオソームなしに再構成された染色体構造 (右)

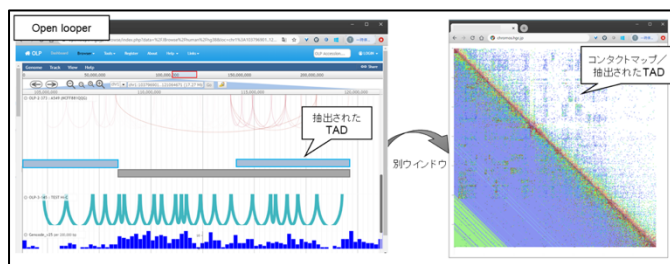


図3. 解析結果閲覧のためのユーザインターフェース

できるようになったばかりでなく、「ス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4)。荒木らは本新学術領域の中で in vitro DNA 複製系の導入を行い、国内では唯一の出芽酵母の in vitro DNA 複製系を活用できる研究室となった (Genes & Dev., 2018)。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)。また、荒木らは in vitro 複製系で、複製フォークが所謂、染色体結合蛋白や転写などの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、その反応をほぼ再構成することに成功した。その結果、複製ヘリカーゼ CMG がチェックポイント因子により調節されることがフォーク停止の重要なステップであることを突き止めた (Genes & Dev., 2018)。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。白髭は転写の *in vitro* 系を構築し、*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ン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っていることを世界で初めて証明した。つまり、染色体高次構造形成因子であるコヒーシンによる転写制御、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、平野、荒木、深川はそれぞれの系を用いて本領域で展開する「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」という課題に他の班員と共に取り組んだ。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進めた。平野は白髭らとは、コンデンシンが転写の結果生じる一本鎖 DNA の巻き戻しに重要であることを示唆する結果を得 (Nat. Commun., 2015)、*in vitro* で再構成された染色体上のコンデンシンの局在原理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ている。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デ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。また、平野らは、公募班の境とともに分裂期染色体の数理モデル化にも成功した (Methods Mol Biol., 2019, PLoS Comput Biol. 2018)。以下に公募班の仕事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)。舛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)。西山らはコヒーシン一分子の動態解析により、コヒーシンリングと 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)。以上、代表的なもののみを取り上げたが、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なされ、目覚ましい進展を見せた。

3) 国際共同研究と若手育成

①国際共同研究

海外との共同研究を 50 以上サポートし、参画若手研究者の交流の機会とした。国際共同研究による国際共著論文の数は 53 を数える。主な共同研究先は CNRS (仏)、カロリンスカ研究所 (瑞)、フィラデルフィアこども病院 (米)、クリック研究所 (英)、オックスフォード大 (英)、ダンディー大 (英)、IMP (澳)、CIB(西)、FMI (瑞西)、トロント大学 (加)、深セン大学 (中国)、IFOM (イタリア) であった。

②若手の育成

本領域は公募班に若手研究者を積極的に採用すると同時に、領域会議への若手研究者の積極的な参加を推奨した。特に 3 回に渡って開催した国際領域会議では、研究代表者のみならず、領域研究に参加したポスドクや大学院生の発表の機会を設けたり (第 4 回ロンドン)、訪問先の研究者・大学院生とディスカッションの時間を設ける (第 7 回カロリンスカ、第 9 回バーゼル) など、国際意識の向上に努めた。その結果、領域内から 4 名の大学院生が学位取得後に海外ポスドクを志し、採用された。また大学院生・博士研究員 10 名が国内で、助教職を中心としたアカデミックポストを獲得した。

また本領域参加当時に 39 歳以下であった公募班代表者は 7 名 (山中、林、村山、境、真柳、佐々木、落合) で、うち山中が東京大学理学研究科准教授、林が京都大学/イタリア分子腫瘍学研究所 (IFOM) 医学研究科グループリーダー、落合が広島大学総合生命科学研究所講師に、それぞれ昇進した。他 4 名についても、順調にアカデミアでのキャリアを継続している。その他特筆すべ

きこととして、計画班の分担研究者である大杉は東京大学教養学部教授に昇任した。計画班の分担研究者である石井浩二郎は高知工科大学教授に昇任した。計画班の分担研究者である岡田は東京大学定量研教授へ昇任した。公募班の宮成は金沢大独立准教授に昇任した。公募班の竹林は三重大学の准教授に昇任した。

5. 主な発表論文等（受賞等を含む）

- 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
- 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.
- 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.
- Hizume, K, Endo, S, Muramatsu, S, Kobayashi, T, *Araki, H DNA polymerase ϵ -dependent modulation of the pausing property of CMG helicase at the barrier. *Genes & Dev.* 32, 1315 – 1320, 2018
- 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**).
- 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
- 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.
- 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.
- 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
- 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.
- *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).

○受賞等

平野（計画班）：2019年朝日賞

ホームページ等

<https://chromos.hgc.jp/>