

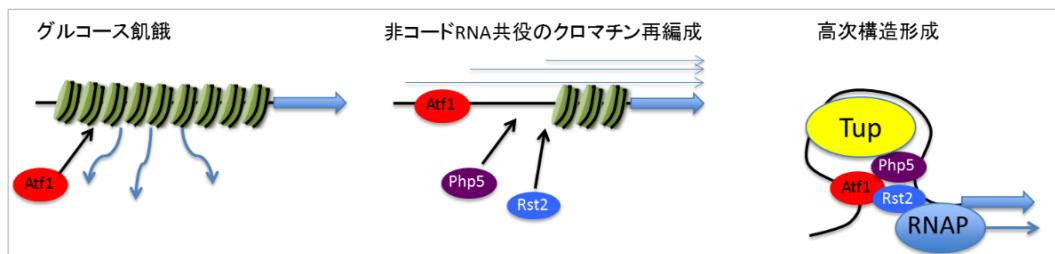
1. 公募班の研究紹介：首都大学東京・廣田 耕志、横浜市立大学・小田 隆
2. アウトリーチ活動：一般公開シンポジウム「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」
3. 成果紹介：①胡桃坂領域代表らの領域内共同研究による論文が、*Scientific Reports*誌に掲載されました。
 ②斎藤(典)らの論文が、*Scientific Reports*誌に掲載されました。
 ③大川班員らの領域内共同研究による論文が、*Nucleic Acids Research*誌に掲載されました。
4. 平成 26 年度の成果
5. 今後の予定

1. 公募班の研究紹介

【ノンコーディング RNA 転写と共役したクロマチン構造変化の制御機構の解明】

研究代表者：廣田 耕志（首都大学東京 理工学研究科）

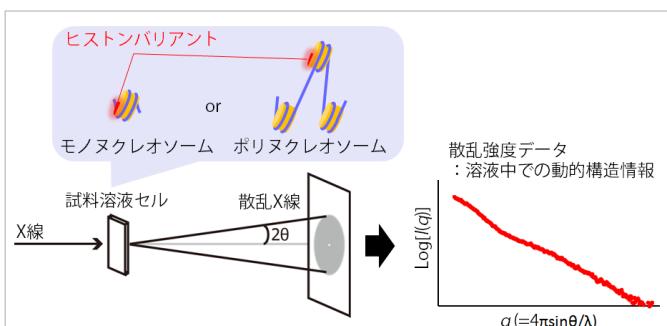
近年、長鎖非コード RNA の核スペックルやカハル体の形成への関与や、がん転移と相關した長鎖非コード RNA 転写誘導などが報告されており、長鎖非コード RNA に関する多くの発見が出始めている。これまで研究代表者らは、分裂酵母のクロマチン動構造の制御機構の研究を行い、非コード RNA 転写に沿った転写領域でのクロマチン再編成現象を見いだしている。しかし、その分子機構は未知の部分が多く残っている。本研究では、非コード RNA 転写と共に役するクロマチン再編成や、その制御における転写抑制・活性化因子のクロストークおよび、クロマチン再編成後に見られる遺伝子座内部での高次構造形成メカニズムについて研究を行う。現在、転写抑制因子 Tup11-12 の複合体が遺伝子プロモータ領域に集積していることや、この領域内で非コード RNA に依存した高次構造を形成（下図）していることを見いだしている。さらに、Tup11-12 複合体が転写のストレス応答特異性や転写開始点選択などの精密制御に必須の役割を果たすことを見いだしている。本研究を通じて、非コード RNA によるクロマチン動構造の新機構解明に繋げることが出来れば幸いである。



【X線小角散乱を用いた再構成クロマチンの動的構造解析】

研究代表者：小田 隆（横浜市立大学 生命医科学）

小角散乱法は結晶構造解析のような原子レベルの分解能はないものの、溶液中での動的な構造情報を得ることができる手法である。クロマチンの構成単位であるモノヌクレオソームはこれまでにも多くの結晶構造が解かれているが、クロマチンの動構造と機能発現を理解するためにはモノヌクレオソームの構造をより高次のクロマチン構造へとつなげてゆく必要がある。モノヌクレオソームを複数つないだポリヌクレオソームは結晶化が難しく、仮に結晶が得られた場合でも結晶化パッキングなどの影響を多分に受けていると推測され

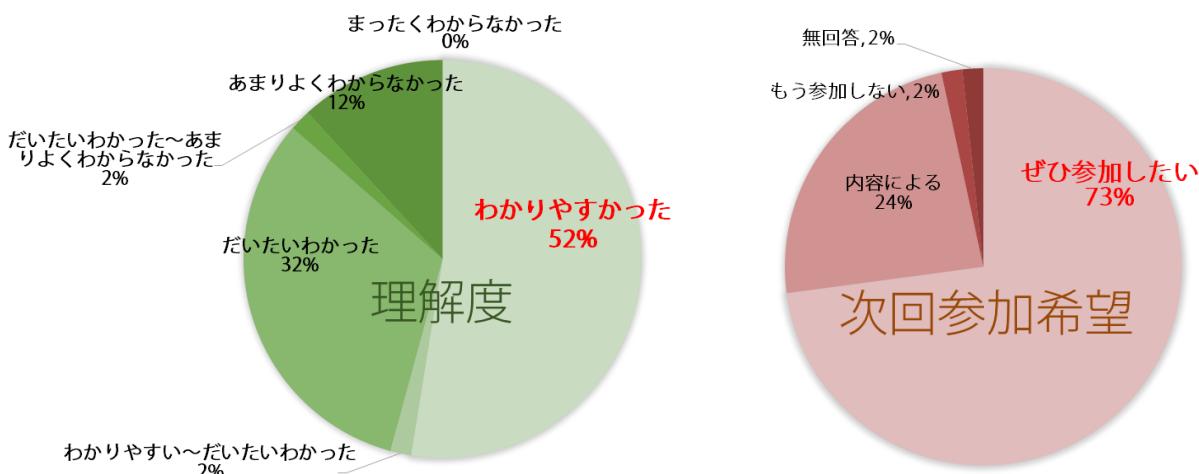


る。従って、本領域内で行われる結晶構造解析による原子分解能での構造決定と合わせて、動的な構造解析も必要と考えられる。本研究では X 線小角散乱法により、結晶化パッキングの影響のない溶液中での動的な構造情報を観測し、ヒストンバリアントを含むヌクレオソームが高次のクロマチン構造へどのような影響を与えるかを明らかにする。さらに、得られた小角散乱データは分子動力学シミュレーションの検証にも利用できるため、これら領域内研究との連携によりクロマチンの動構造の解明を目指す。

2. アウトリーチ活動

■ 一般公開シンポジウム第2弾「生き物と細胞の設計図～DNA・クロマチン・核～」

1月 12 日（月）、千里ライフサイエンスセンターにおいて、山縣一夫班員を中心に企画された一般公開シンポジウムが開催されました。これは、2014 年 8 月に行われたシンポジウムに続く二回目のものです。当日は、成人の日、かつ、入試シーズンであったにも関わらず、10 代から 70 代以上の幅広い年齢層の約 80 名の参加者がありました。そのうち、59 名の方がアンケートに回答してくださいました。多くの方々に発表内容を理解していただけたようで、意義のあるものとなりました。



3. 成果紹介

①胡桃坂領域代表と香川班員らによる領域内共同研究の論文が、*Scientific Reports* 誌に掲載されました。

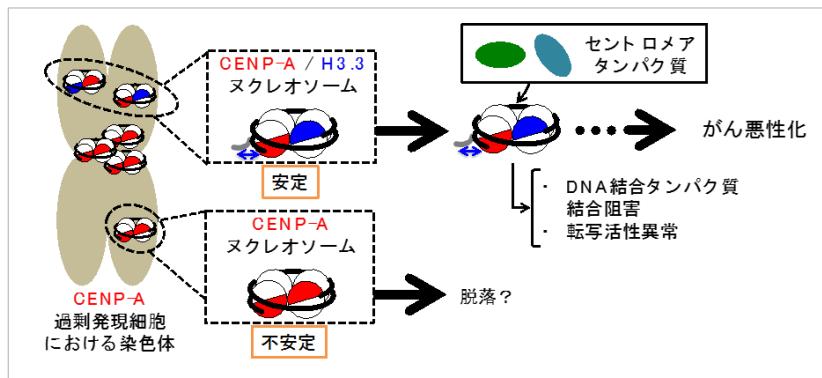
Crystal structure and stable property of the cancer-associated heterotypic nucleosome containing CENP-A and H3.3.

Arimura Y, Shirayama K, Horikoshi N, Fujita R, Taguchi H, Kagawa W, Fukagawa T, Almouzni G, Kurumizaka H
Sci. Rep. 2014 Nov 19;4:7115.
<http://www.nature.com/srep/2014/141119/srep07115/full/srep07115.html>

ヌクレオソームはクロマチンの基本構造ユニットであり、4 種類のヒストン（H2A、H2B、H3、H4）各 2 分子ずつからなるヒストン 8 量体に DNA が巻き付いた構造体である。ヒストンにはアミノ酸配列が類似した亜種（バリアント）が多数存在し、ヒストンバリアントはヌクレオソームに取り込まれることでクロマチンの性質を変化させ、ゲノム DNA 上で起こるイベントを制御すると考えられている。近年、様々ながん細胞において、ヒストンバリアントの発現異常や体細胞変異が見出されており、がん化やがんの悪性化にヒストンバリアントが関与するメカニズムが注目されている。CENP-A はセントロメア領域に局在するヒストン H3 バリアントで、正常細胞ではセントロメアの形成を主導する。一方、結腸がんなどの、ある種のがん細胞においては、CENP-A が高発現し、セントロメア以外の領域に CENP-A と H3.3 を 1 分子ずつヘテロに含

むヌクレオソーム (CENP-A/H3.3 ヌクレオソーム) が形成されることが、G. Almouzni と胡桃坂領域代表との共同研究によって報告されている (1)。

そこで本研究においては、CENP-A/H3.3 ヌクレオソームの構造と形成メカニズムを明らかにするため、精製ヒストンを用いてヒトの CENP-A/H3.3 ヌクレオソームを試験管内で再構成し、X 線結晶構造解析をはじめとする構造生物学的解析、および生化学的解析を行った。その結果、CENP-A/H3.3 ヌクレオソームは、CENP-A ホモヌクレオソームよりも著しく安定であることを見いだした。一方、CENP-A/H3.3 ヌクレオソームは CENP-A ホモヌクレオソームの特徴である“ヌクレオソーム末端に位置する DNA がフレキシブルである性質”および“セントロメアタンパク質 CENP-C への結合能”を保持していることが明らかになった。これらの性質によって、セントロメア以外の領域に形成された CENP-A/H3.3 ヌクレオソームにはセントロメアタンパク質の一部が集積し、さらに、この状態が安定に保持されてしまうと考えられる (図)。したがって、CENP-A/H3.3 ヌクレオソームの形成によって、不適切な領域へのセントロメア形成や、本来クロマチンに結合すべきである DNA 結合タンパク質の阻害が引き起こされると考えられた。それによって、転写などの DNA 機能発現に異常が生じることで、発がんやがんの悪性化につながる可能性が示唆された (図)。このように本研究は、がんの悪性化に寄与するとされているヌクレオソームの構造生物学的および生化学的特徴について初めて明らかにしたもので、今後、医療分野などへの貢献が期待される。



(1) Mislocalization of the centromeric histone variant CenH3/CENP-A in human cells depends on the chaperone DAXX., Lacoste N, Woolfe A, Tachiwana H, Garea AV, Barth T, Cantaloube S, Kurumizaka H, Imhof A, Almouzni G., Mol. Cell. 2014 Feb 20;53(4):631-644.

②斎藤(典)班員らの論文が、Scientific Reports 誌に掲載されました。本成果は、熊本日日新聞 (H26. 11/12) に掲載されました。

Computational image analysis of colony and nuclear morphology to evaluate human induced pluripotent stem cells

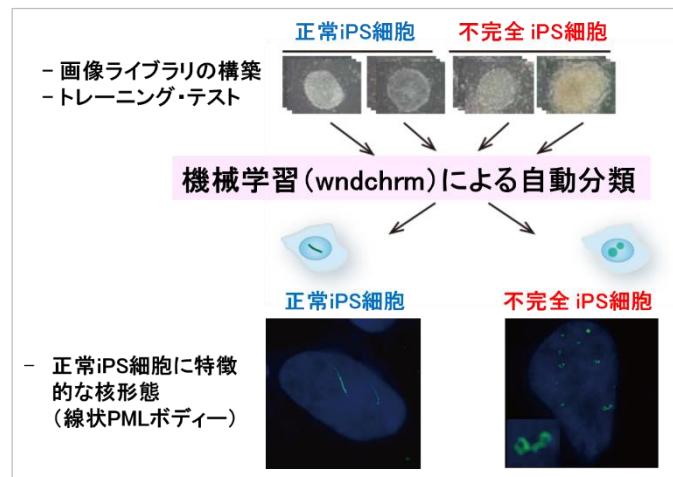
Tokunaga K, Saitoh N, Goldberg IG, Sakamoto C, Yasuda Y, Yoshida Y, Yamanaka S, Nakao M.

Sci. Rep. 2014 Nov 11;4:6996.

<http://www.nature.com/srep/2014/141111/srep06996/full/srep06996.html>

細胞核内は、転写や DNA の複製、修復などが効率的に行われることを反映して高度に組織化されており、核小体、PML ボディー、カハールボディーなどの様々な構造体が存在する。細胞核の形態は、細胞分化、ストレス応答、疾患など様々な状況で特徴的に変化し、細胞の状態を評価するよい指標であると考えられている。一方、再生医療などでは、細胞のリプログラミング状態を非侵襲性に評価できる技術が必要とされている。例えば、iPS 細胞は体細胞に規定の因子を導入することで作成できるが、その過程で正常にリプログラムされたコロニーと、リプログラムが不完全であったコロニーが混在するので、これらを正確に判別することが重要である。近年、生物画像を目視のみで判断せずに、定量化して客観的に評価しようという機運が高まり、関連技術が発展している。パターン認識プログラム wndchrm (weighted neighbor distances using a compound hierarchy of algorithms representing morphology) は、形態による自動分類や推定、形態の類似度を自動計測するために開発された。我々は、wndchrm を用いて、生きた状態で、人工的な標識をしていないコロニー画像を用いて、正常なヒト iPS 細胞を不完全にリプログラムされた細胞から区別する、画像解析技術の確立を試みた。

まず、ヒトリプログラム細胞の位相差画像を多数取得し、画像ライブラリーを作成し、*wndchrm*による教師付き機械学習を行い、分別器を構築した。その結果、正常にリプログラムした iPS と、コロニー形成をしているものの適切にリプログラムされなかった、不完全 iPS 細胞を、高精度に分類することができた。また、正常 iPS と不完全 iPS の形態の違いはコロニーを形成する個々の細胞内にあることが示唆された。そこで我々は、様々な細胞核内構造形態の定量解析を行った。転写制御やストレス応答などに関わる核内構造体である PML ボディーは、一般的な体細胞では、直径 0.2~1 μm 程度の球状構造で存在する。大変めずらしいことに、正常 iPS では線状構造を形成しており、分化とともに球状に戻ってゆくことがわかった。また、超解像顕微鏡解析 (SIM; Structured Illumination Microscopy) により、不完全な iPS 細胞では、球状から線状への遷移状態の PML ボディーが形成されていることが示された。我々の研究により、細胞のリプログラミングの過程で細胞核の構造がダイナミックに、かつ特異的に変化していること、さらに、これらの特徴により細胞状態を高精度に分類できることが示された。



③大川班員と木村班員らによる領域内共同研究の論文が、Nucleic Acids Research 誌に掲載されました。

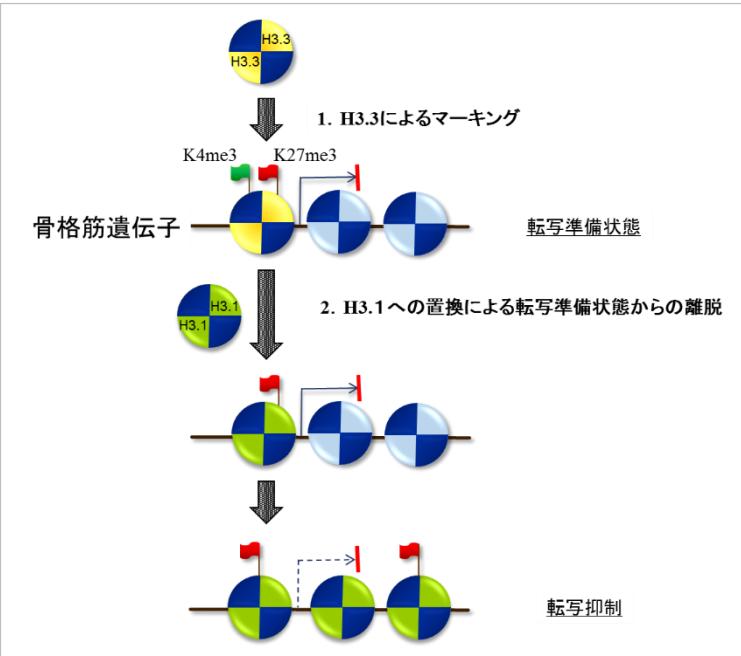
Incorporation of histone H3.1 suppresses the lineage potential of skeletal muscle.

Harada A, Maehara K, Sato Y, Konno D, Tachibana T, Kimura H, Ohkawa Y

Nucleic Acids Res. 2015 Jan;43(2):775-86.

<http://nar.oxfordjournals.org/content/43/2/775.long>

細胞分化とは、23,000 もの遺伝子の中から分化に必要な特定の遺伝子群が選択され、適切に発現されることと捉えることができる。言い換えると、分化する能力（分化能）を持つ細胞は、なんらかの形で“遺伝子を発現させる能力”を持っていると考えられる。この分化能は、遺伝子発現が行われる場であるクロマチン構造に規定されていると考えられてきたが、その実体は未だ不明な点が多い。今回、我々は、この分化能を規定するクロマチン構造に異なるヒストン H3 バリアントの量比が関わっていることを明らかとした。これまでに、我々は骨格筋分化をモデルとして、ヒストン H3 バリアントの 1 つである H3.3 が、骨格筋分化関連遺伝子のプロモーター領域をあらかじめマーキングすることが、その後の遺伝子発現のために必須であることを報告した。本論文では、取り込まれた H3.3 がどのように骨格筋分化を制御しているか更に解析を進めた。



マウス発生胚を用いて *in vivo* での骨格筋分化における H3.3 の取り込み及び H3K4me3 と H3K27me3 の修飾を次世代シークエンスによるクロマチン免疫沈降 (ChIPseq) により解析した結果、未分化段階では、骨格筋遺伝子のプロモーター領域に、H3.3 が取り込まれており、活性型 H3K4me3 と抑制型 H3K27me3 の両方の修飾を持つ双極性修飾(bivalent state)を一過的に形成していた。そして、分化に伴い、抑制型 H3K27me3 が消失し、活性型 H3K4me3 が保持されることが明らかとなった。つまり、H3.3 の取り込みは発現可能な状態でありながら、直接、遺伝子発現に結びつく訳ではないことが示唆された。そこで、骨格筋分化時に H3.1 と H3.3 の

骨格筋遺伝子上での取り込みバランスを強制的に変化させてみることにした。未分化段階のC2C12細胞(骨格筋に分化する培養細胞)においてGFP-H3.1を強制発現させた結果、C2C12細胞の骨格筋分化が抑制されることが分かった。ChIPseq解析の結果、GFP-H3.1強制発現細胞ではH3.3の減少とGFP-H3.1の取り込みの増加が明らかとなった。逆にH3.3を強制発現させた場合、骨格筋分化が亢進することが明らかとなった。次に、H3.3あるいはH3.1が取り込まれることで骨格筋遺伝子座のプロモーター領域のヒストン修飾にどのような影響を与えたか解析を行った。同様にChIPseq解析の結果、GFP-H3.1を発現させたC2C12細胞では、GFP-H3.1への置換によってH3K4me3修飾が減少しH3K27me3修飾が上昇していた。これは双極性修飾の状態から抑制性修飾の状態に偏ることで分化能抑制を招いたことを示唆していた(図)。これらの結果は、骨格筋分化能は、クロマチンへのH3.3の取り込みを介して確立され、H3バリアントの取り込み比によりヒストン修飾状態が調節されることを示している。ヒストンの選択的発現を制御することで様々な細胞分化能制御への応用が期待できる。

4. 平成26年度の成果

原著論文

領域内共同研究による論文が22報発表されました。

DNA binding properties of the actin-related protein Arp8 and its role in DNA repair.

Osakabe A, Takahashi Y, Murakami H, Otawa K, Tachiwana H, Oma Y, Nishijima H, Shibahara KI, Kurumizaka H, Harata M
PLoS One, 2014 Oct 9;9(10):e108354.

Crystal structure and stable property of the cancer-associated heterotypic nucleosome containing CENP-A and H3.3

Arimura Y, Shirayama K, Horikoshi N, Fujita R, Taguchi H, Kagawa W, Fukagawa T, Almouzni G and Kurumizaka H
Sci Rep, 2014, 4: 7115

Distinct features of the histone core structure in nucleosomes containing the histone H2A.B variant

Sugiyama M, Arimura Y, Shirayama K, Fujita R, Oba Y, Sato N, Inoue R, Oda T, Sato M, Heenan RK and Kurumizaka H
Biophys J, 2014, 106(10): 2206-2213

Nap1 stimulates homologous recombination by RAD51 and RAD54 in higher-ordered chromatin containing histone H1

Machida S, Takaku M, Ikura M, Sun J, Suzuki H, Kobayashi W, Kinomura A, Osakabe A, Tachiwana H, Horikoshi Y, Fukuto A, Matsuda R, Ura K, Tashiro S, Ikura T and Kurumizaka H
Sci Rep, 2014, 4: 4863

Histone H4 Lys 20 monomethylation of the CENP-A nucleosome is essential for kinetochore assembly

Hori T, Shang WH, Toyoda A, Misu S, Monma N, Ikeo K, Molina O, Vargiu G, Fujiyama A, Kimura H, Earnshaw WC and Fukagawa T
Dev Cell, 2014, 29(6): 740-749

The CENP-O complex requirement varies among different cell types

Kagawa N, Hori T, Hoki Y, Hosoya O, Tsutsui K, Saga Y, Sado T and Fukagawa T
Chromosome Res, 2014, 22(3): 293-303

Two arginine residues suppress the flexibility of nucleosomal DNA in the canonical nucleosome core

Kono H, Shirayama K, Arimura Y, Tachiwana H and Kurumizaka H
PLoS One, 2015, 10(3): e0120635

Regulation of RNA polymerase II activation by histone acetylation in single living cells

Stasevich TJ, Hayashi-Takanaka Y, Sato Y, Maehara K, Ohkawa Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Nagase T, Nozaki N, McNally JG and Kimura H
Nature, 2014, 516(7530): 272-275

Evaluation of chemical fluorescent dyes as a protein conjugation partner for live cell imaging

Hayashi-Takanaka Y, Stasevich TJ, Kurumizaka H, Nozaki N and Kimura H
PLoS One, 2014, 9(9): e106271

Heterochromatin dynamics during the differentiation process revealed by the DNA methylation reporter mouse, MethylIRO

Ueda J, Maehara K, Mashiko D, Ichinose T, Yao T, Hori M, Sato Y, Kimura H, Ohkawa Y and Yamagata K
Stem Cell Reports, 2014, 2(6): 910-924

Biased assembly of the nuclear pore complex is required for somatic and germline nuclear differentiation in Tetrahymena

Iwamoto M, Koujin T, Osakada H, Mori C, Kojidani T, Matsuda A, Asakawa H, Hiraoka Y and Haraguchi T
J Cell Sci, 2015, doi: 10.1242/jcs.167353

Fluorescence correlation spectroscopy with visible-wavelength superconducting nanowire single-photon detector

Yamashita T, Liu D, Miki S, Yamamoto J, Haraguchi T, Kinjo M, Hiraoka Y, Wang Z and Terai H
Opt Express, 2014, 22(23): 28783-28789

Externally Controllable Molecular Communication

Nakano T, Kobayashi S, Suda T, Okaie Y, Hiraoka Y, Haraguchi T
IEEE J Sel Area Comm, 2014, 32 (12), 2417-2431, doi: 10.1109/JSAC.2014.2367667

Characterization of nuclear pore complex components in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*.
Asakawa H, Yang HJ, Yamamoto TG, Ohtsuki C, Chikashige Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Iwamoto M, Hiraoka Y, Haraguchi T
Nucleus, 5(2):149-162

Nuclear actin activates human transcription factor genes including the OCT4 gene
Yamazaki S, Yamamoto K, Tokunaga M, Sakata-Sogawa K and Harata M
Biosci Biotechnol Biochem, 2015, 79(2): 242-246

Incorporation of histone H3.1 suppresses the lineage potential of skeletal muscle
Harada A, Maehara K, Sato Y, Konno D, Tachibana T, Kimura H and Ohkawa Y
Nucleic Acids Res, 2015, 43(2): 775-786

Glycolytic genes are targets of the nuclear receptor Ad4BP/SF-1
Baba T, Otake H, Sato T, Miyabayashi K, Shishido Y, Wang CY, Shima Y, Kimura H, Yagi M, Ishihara Y, Hino S, Ogawa H, Nakao M, Yamazaki T, Kang D, Ohkawa Y, Suyama M, Chung BC and Morohashi K
Nat Commun, 2014, 5: 3634

Meiotic nuclear movements in fission yeast are regulated by the transcription factor Mei4 downstream of a Cds1-dependent replication checkpoint pathway
Ruan K, Yamamoto TG, Asakawa H, Chikashige Y, Masukata H, Haraguchi T and Hiraoka Y
Genes Cells, 2015, 20(3): 160-172

Chromosomes rein back the spindle pole body during horsetail movement in fission yeast meiosis
Chikashige Y, Yamane M, Okamasa K, Mori C, Fukuta N, Matsuda A, Haraguchi T and Hiraoka Y
Cell Struct Funct, 2014, 39(2): 93-100

Regulation of homologous recombinational repair by lamin B1 in radiation-induced DNA damage
Liu NA, Sun J, Kono K, Horikoshi Y, Ikura T, Tong X, Haraguchi T and Tashiro S
FASEB J, 2015, doi: 10.1096/fj.14-265546

Reorganization of damaged chromatin by the exchange of histone variant H2A.Z-2
Nishibuchi I, Suzuki H, Kinomura A, Sun J, Liu NA, Horikoshi Y, Shima H, Kusakabe M, Harata M, Fukagawa T, Ikura T, Ishida T, Nagata Y and Tashiro S
Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2014, 89(4): 736-744

Adhesion of suspension cells on a coverslip in serum-free conditions
Nakayama T, Mihara K, Kawata J, Kimura H and Saitoh H
Anal Biochem, 2014, 466(1-3)

その他 81 報の論文が発表されました。

Charge-neutralization effect of the tail regions on the histone H2A/H2B dimer structure
Saikusa K, Shimoyama S, Asano Y, Nagadoi A, Sato M, Kurumizaka H, Nishimura Y and Akashi S
Protein Sci, 2015, doi: 10.1002/pro.2673

Mass spectrometric approach for characterizing the disordered tail regions of the histone H2A/H2B dimer
Saikusa K, Nagadoi A, Hara K, Fuchigami S, Kurumizaka H, Nishimura Y and Akashi S
Anal Chem, 2015, 87(4): 2220-2227

Human tNASP promotes in vitro nucleosome assembly with histone H3.3
Kato D, Osakabe A, Tachiwana H, Tanaka H and Kurumizaka H
Biochemistry, 2015, 54(5): 1171-1179

A method for evaluating nucleosome stability with a protein-binding fluorescent dye
Taguchi H, Horikoshi N, Arimura Y and Kurumizaka H
Methods, 2014, 70(2-3): 119-126

N-terminal phosphorylation of HP1alpha increases its nucleosome-binding specificity
Nishibuchi G, Machida S, Osakabe A, Murakoshi H, Hiragami-Hamada K, Nakagawa R, Fischle W, Nishimura Y, Kurumizaka H, Tagami H and Nakayama J
Nucleic Acids Res, 2014, 42(20): 12498-12511

Expression and purification of human FANCI and FANCD2 using Escherichia coli cells
Takahashi D, Sato K, Shimomuki M, Takata M and Kurumizaka H
Protein Expr Purif, 2014, 103: 8-15

FANCD2 binds CtIP and regulates DNA-end resection during DNA interstrand crosslink repair
Unno J, Itaya A, Taoka M, Sato K, Tomida J, Sakai W, Sugasawa K, Ishiai M, Ikura T, Isobe T, Kurumizaka H and Takata M
Cell Rep, 2014, 7(4): 1039-1047

Defective FANCI binding by a fanconi anemia-related FANCD2 mutant
Sato K, Ishiai M, Takata M and Kurumizaka H
PLoS One, 2014, 9(12): e114752

Structure of human nucleosome containing the testis-specific histone variant TSH2B.
Urahama T, Horikoshi N, Osakabe A, Tachiwana H, Kurumizaka H.
Acta Crystallogr F Struct Biol Commun, 2014 Apr;70(Pt 4):444-9.

Local dynamics coupled to hydration water determines DNA-sequence-dependent deformability
Nakagawa H, Yonetani Y, Nakajima K, Ohira-Kawamura S, Kikuchi T, Inamura Y, Kataoka M and Kono H
Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys, 2014, 90(2): 022723

Intensity of Diffracted X-rays from Biomolecules with Radiation Damage Caused by Strong X-ray Pulses

Kai T, Tokuhiga A, Moribayashi K, Fukuda Y, Kono H, Go N
J. Phys. Soc. Jpn. 2014, 83: 094301 doi: 10.7566/JPSJ.83.094301

An annexin A1-FPR1 interaction contributes to necroptosis of keratinocytes in severe cutaneous adverse drug reactions

Saito N, Qiao H, Yanagi T, Shinkuma S, Nishimura K, Suto A, Fujita Y, Suzuki S, Nomura T, Nakamura H, Nagao K, Obuse C, Shimizu H and Abe R
Sci Transl Med, 2014, 6(245): 245ra295

A novel method for purification of the endogenously expressed fission yeast Set2 complex

Suzuki S, Nagao K, Obuse C, Murakami Y and Takahata S
Protein Expr Purif, 2014, 97: 44-49

CxxC-ZF domain is needed for KDM2A to demethylate histone in rDNA promoter in response to starvation

Tanaka Y, Umata T, Okamoto K, Obuse C and Tsuneoka M
Cell Struct Funct, 2014, 39(1): 79-92

Coordinated expression of H3K9 histone methyltransferases during tooth development in mice

Kamiunten T, Ideno H, Shimada A, Nakamura Y, Kimura H, Nakashima K and Nifuji A
Histochem Cell Biol, 2015, 143(3): 259-266

Phenotype Specific Analyses Reveal Distinct Regulatory Mechanism for Chronically Activated p53

Kirschner K, Samarajiva SA, Cairns JM, Menon S, Perez-Mancera PA, Tomimatsu K, Bermejo-Rodriguez C, Ito Y, Chandra T, Narita M, Lyons SK, Lynch AG, Kimura H, Ohbayashi T, Tavare S and Narita M
PLoS Genet, 2015, 11(3): e1005053

H3K36 Trimethylation-Mediated Epigenetic Regulation is Activated by Bam and Promotes Germ Cell Differentiation During Early Oogenesis in Drosophila

Mukai M, Hira S, Nakamura K, Nakamura S, Kimura H, Sato M and Kobayashi S
Biol Open, 2015, 4(2): 119-124

Quantifying histone and RNA polymerase II post-translational modification dynamics in mother and daughter cells

Stasevich TJ, Sato Y, Nozaki N and Kimura H
Methods, 2014, 70(2-3): 77-88

Hierarchical molecular events driven by oocyte-specific factors lead to rapid and extensive reprogramming

Jullien J, Miyamoto K, Pasque V, Allen GE, Bradshaw CR, Garrett NJ, Halley-Stott RP, Kimura H, Ohsumi K and Gurdon JB
Mol Cell, 2014, 55(4): 524-536

Nuclear dynamics of topoisomerase IIbeta reflects its catalytic activity that is regulated by binding of RNA to the C-terminal domain

Onoda A, Hosoya O, Sano K, Kiyama K, Kimura H, Kawano S, Furuta R, Miyaji M, Tsutsui K and Tsutsui KM
Nucleic Acids Res, 2014, 42(14): 9005-9020

Nucleosomal regulation of chromatin composition and nuclear assembly revealed by histone depletion

Zierhut C, Jenness C, Kimura H and Funabiki H
Nat Struct Mol Biol, 2014, 21(7): 617-625

Loss of histone H4K20 trimethylation predicts poor prognosis in breast cancer and is associated with invasive activity

Yokoyama Y, Matsumoto A, Hieda M, Shinichi Y, Ogihara E, Hamada M, Nishioka Y, Kimura H, Yoshidome K, Tsujimoto M and Matsuura N
Breast Cancer Res, 2014, 16(3): R66

DNA methylation reader MECP2: cell type- and differentiation stage-specific protein distribution

Song C, Feodorova Y, Guy J, Peichl L, Jost KL, Kimura H, Cardoso MC, Bird A, Leonhardt H, Joffe B and Solovei I
Epigenetics Chromatin, 2014, 7: 17

Direct evidence for pitavastatin induced chromatin structure change in the KLF4 gene in endothelial cells

Maejima T, Inoue T, Kanki Y, Kohro T, Li G, Ohta Y, Kimura H, Kobayashi M, Taguchi A, Tsutsumi S, Iwanari H, Yamamoto S, Aruga H, Dong S, Stevens JF, Poh HM, Yamamoto K, Kawamura T, Mimura I, Suehiro J, Sugiyama A, Kaneki K, Shibata H, Yoshinaka Y, Doi T, Asanuma A, Tanabe S, Tanaka T, Minami T, Hamakubo T, Sakai J, Nozaki N, Aburatani H, Nangaku M, Ruan X, Tanabe H, Ruan Y, Ihara S, Endo A, Kodama T and Wada Y
PLoS One, 2014, 9(5): e96005

Stella preserves maternal chromosome integrity by inhibiting 5hmC-induced gammaH2AX accumulation

Nakatani T, Yamagata K, Kimura T, Oda M, Nakashima H, Hori M, Sekita Y, Arakawa T, Nakamura T and Nakano T
EMBO Rep, 2015, doi: 10.15252/embr.201439427

Improved and robust detection of cell nuclei from four dimensional fluorescence images

Bashar MK, Yamagata K and Kobayashi TJ
PLoS One, 2014, 9(7): e101891

Deficiency of a lipid droplet protein, perilipin 5, suppresses myocardial lipid accumulation, thereby preventing type 1 diabetes-induced heart malfunction

Kuramoto K, Sakai F, Yoshinori N, Nakamura TY, Wakabayashi S, Kojidani T, Haraguchi T, Hirose F and Osumi T
Mol Cell Biol, 2014, 34(14): 2721-2731

A facile preparation of glass-supported lipid bilayers for analyzing molecular dynamics

Ito Y, Sakata-Sogawa K and Tokunaga M
Anal Sci, 2014, 30(12): 1103-1106

Proteomic identification of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K as a novel cold-associated autoantigen in patients with secondary Raynaud's phenomenon

Yang L, Fujimoto M, Murota H, Serada S, Fujimoto M, Honda H, Yamada K, Suzuki K, Nishikawa A, Hosono Y, Yoneda Y, Takehara K, Imura Y, Mimori T, Takeuchi T, Katayama I and Naka T
Rheumatology (Oxford), 2015, 54(2): 349-358

Structural basis for the selective nuclear import of the C2H2 zinc-finger protein Snail by importin beta
Choi S, Yamashita E, Yasuhara N, Song J, Son SY, Won YH, Hong HR, Shin YS, Sekimoto T, Park IY, Yoneda Y and Lee SJ
Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 2014, 70(Pt 4): 1050-1060

Transcriptional program of Kpna2/importin-alpha2 regulates cellular differentiation-coupled circadian clock development in mammalian cells
Umemura Y, Koike N, Matsumoto T, Yoo SH, Chen Z, Yasuhara N, Takahashi JS and Yagita K
Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(47): E5039-5048

The linker histone in *Saccharomyces cerevisiae* interacts with actin-related protein 4 and both regulate chromatin structure and cellular morphology
Georgieva M, Staneva D, Uzunova K, Efremov T, Balashev K, Harata M and Miloshev G
Int J Biochem Cell Biol, 2015, 59: 182-192

SWR1 and INO80 chromatin remodelers contribute to DNA double-strand break perinuclear anchorage site choice
Horigome C, Oma Y, Konishi T, Schmid R, Marcomini I, Hauer MH, Dion V, Harata M and Gasser SM
Mol Cell, 2014, 55(4): 626-639

Nuclear actin filaments recruit cofilin and actin-related protein 3, and their formation is connected with a mitotic block
Kalendova A, Kalasova I, Yamazaki S, Ulicna L, Harata M and Hozak P
Histochem Cell Biol, 2014, 142(2): 139-152

Computational image analysis of colony and nuclear morphology to evaluate human induced pluripotent stem cells
Tokunaga K, Saitoh N, Goldberg IG, Sakamoto C, Yasuda Y, Yoshida Y, Yamanaka S and Nakao M
Sci Rep, 2014, 4: 6996

Spatial re-organization of myogenic regulatory sequences temporally controls gene expression
Harada A, Mallappa C, Okada S, Butler JT, Baker SP, Lawrence JB, Ohkawa Y and Imbalzano AN
Nucleic Acids Res, 2015, 43(4): 2008-2021

MED26 regulates the transcription of snRNA genes through the recruitment of little elongation complex
Takahashi H, Takigawa I, Watanabe M, Anwar D, Shibata M, Tomomori-Sato C, Sato S, Ranjan A, Seidel CW, Tsukiyama T, Mizushima W, Hayashi M, Ohkawa Y, Conaway JW, Conaway RC and Hatakeyama S
Nat Commun, 2015, 6: 5941

A genome-wide analysis identifies a notch-RBP-Jkappa-IL-7Ralpha axis that controls IL-17-producing gammadelta T cell homeostasis in mice
Nakamura M, Shibata K, Hatano S, Sato T, Ohkawa Y, Yamada H, Ikuta K and Yoshikai Y
J Immunol, 2015, 194(1): 243-251

Interleukin-10-producing plasmablasts exert regulatory function in autoimmune inflammation
Matsumoto M, Baba A, Yokota T, Nishikawa H, Ohkawa Y, Kayama H, Kallies A, Nutt SL, Sakaguchi S, Takeda K, Kurosaki T and Baba Y
Immunity, 2014, 41(6): 1040-1051

SraTailor: graphical user interface software for processing and visualizing ChIP-seq data
Oki S, Maehara K, Ohkawa Y and Meno C
Genes Cells, 2014, 19(12): 919-926

Genome-wide analysis of histone modifications in human endometrial stromal cells
Tamura I, Ohkawa Y, Sato T, Suyama M, Jozaki K, Okada M, Lee L, Maekawa R, Asada H, Sato S, Yamagata Y, Tamura H and Sugino N
Mol Endocrinol, 2014, 28(10): 1656-1669

Acute hyperglycemia impairs functional improvement after spinal cord injury in mice and humans
Kobayakawa K, Kumamaru H, Saiwai H, Kubota K, Ohkawa Y, Kishimoto J, Yokota K, Ideta R, Shiba K, Tozaki-Saitoh H, Inoue K, Iwamoto Y and Okada S
Sci Transl Med, 2014, 6(256): 256ra137

Establishment of neutralizing rat monoclonal antibodies for fibroblast growth factor-2
Tanaka M, Yamaguchi M, Shiota M, Kawamoto Y, Takahashi K, Inagaki A, Osada-Oka M, Harada A, Wanibuchi H, Izumi Y, Miura K, Iwao H and Ohkawa Y
Monoclon Antib Immunodiagn Immunother, 2014, 33(4): 261-269

Identification of myelin transcription factor 1 (MyT1) as a subunit of the neural cell type-specific lysine-specific demethylase 1 (LSD1) complex
Yokoyama A, Igarashi K, Sato T, Takagi K, Otsuka IM, Shishido Y, Baba T, Ito R, Kanno J, Ohkawa Y, Morohashi K and Sugawara A
J Biol Chem, 2014, 289(26): 18152-18162

Hsc70 contributes to cancer cell survival by preventing Rab1A degradation under stress conditions
Tanaka M, Mun S, Harada A, Ohkawa Y, Inagaki A, Sano S, Takahashi K, Izumi Y, Osada-Oka M, Wanibuchi H, Yamagata M, Yukimura T, Miura K, Shiota M and Iwao H
PLoS One, 2014, 9(5): e96785

Chromokinesin Kid and kinetochore kinesin CENP-E differentially support chromosome congression without end-on attachment to microtubules
Iemura K and Tanaka K
Nat Commun, 2015, 6: 6447

CLIP-170 recruits PLK1 to kinetochores during early mitosis for chromosome alignment
Amin MA, Itoh G, Iemura K, Ikeda M and Tanaka K
J Cell Sci, 2014, 127(Pt 13): 2818-2824

Foxa2 acts as a co-activator potentiating expression of the Nurr1-induced DA phenotype via epigenetic regulation
Yi SH, He XB, Rhee YH, Park CH, Takizawa T, Nakashima K and Lee SH
Development, 2014, 141(4): 761-772

DBTMEE: a database of transcriptome in mouse early embryos

Park SJ, Shirahige K, Ohsugi M and Nakai K

Nucleic Acids Res, 2015, 43(Database issue): D771-776

The 19S proteasome subunit Rpt3 regulates distribution of CENP-A by associating with centromeric chromatin

Kitagawa T, Ishii K, Takeda K and Matsumoto T

Nat Commun, 2014, 5: 3597

The International Nucleome Consortium

Tashiro S and Lanctot C

Nucleus, 2015, 1-4, doi: 10.1080/19491034.2015.1022703

The transcription repressors Bach2 and Bach1 promote B cell development by repressing the myeloid program

Itoh-Nakadai A, Hikota R, Muto A, Kometani K, Watanabe-Matsui M, Sato Y, Kobayashi M, Nakamura A, Miura Y, Yano Y, Tashiro S, Sun J, Ikawa T, Ochiai K, Kurosaki T and Igarashi K

Nat Immunol, 2014, 15(12): 1171-1180

Smoking cessation reverses DNA double-strand breaks in human mononuclear cells

Ishida M, Ishida T, Tashiro S, Uchida H, Sakai C, Hironobe N, Miura K, Hashimoto Y, Arihiro K, Chayama K, Kihara Y and Yoshizumi M

PLoS One, 2014, 9(8): e103993

X chromosome reactivation dynamics reveal stages of reprogramming to pluripotency

Pasque V, Tchieu J, Karnik R, Uyeda M, Sadhu Dimashkie A, Case D, Papp B, Bonora G, Patel S, Ho R, Schmidt R, McKee R, Sado T, Tada T, Meissner A and Plath K

Cell, 2014, 159(7): 1681-1697

Amplified and selective assay of collagens by enzymatic and fluorescent reactions

Yasmin H, Kabashima T, Rahman MS, Shibata T and Kai M

Sci Rep, 2014, 4: 4950

Carbon nanofiber-based luminol-biotin probe for sensitive chemiluminescence detection of protein

Baj S, Krawczyk T, Pradel N, Azam MG, Shibata T, Dragusha S, Skutil K, Pawlyta M and Kai M

Anal Sci, 2014, 30(11): 1051-1056

Effect of Atmospheric-Pressure Helium Plasma Jet on Cell Culture Medium

Takamura N, Wang D, Satoh T, Namihira T, Saitoh H, Akivama H

ELECTRON COMM JPN, 2014, 97(11): 65-73, doi: 10.1002/ecj.11636

SUMO-modification and elimination of the active DNA demethylation enzyme TDG in cultured human cells

Moriyama T, Fujimitsu Y, Yoshikai Y, Sasano T, Yamada K, Murakami M, Urano T, Sugawara K and Saitoh H

Biochem Biophys Res Commun, 2014, 447(3): 419-424

The SUMO-targeted ubiquitin ligase RNF4 localizes to etoposide-exposed mitotic chromosomes: implication for a novel DNA damage response during mitosis

Saito M, Fujimitsu Y, Sasano T, Yoshikai Y, Ban-Ishihara R, Narai Y, Urano T and Saitoh H

Biochem Biophys Res Commun, 2014, 447(1): 83-88

Inhibition of protein SUMOylation by davidiin, an ellagitannin from Davidia involucrata

Takemoto M, Kawamura Y, Hirohama M, Yamaguchi Y, Handa H, Saitoh H, Nakao Y, Kawada M, Khalid K, Koshino H, Kimura K, Ito A and Yoshida M

J Antibiot (Tokyo), 2014, 67(4): 335-338

Assay methods for small ubiquitin-like modifier (SUMO)-SUMO-interacting motif (SIM) interactions in vivo and in vitro using a split-luciferase complementation system

Hirohama M, Voet AR, Ozawa T, Saitoh H, Nakao Y, Zhang KY, Ito A and Yoshida M

Anal Biochem, 2014, 448(92-94

Construction of a mouse Aos1-Uba2 chimeric SUMO-E1 enzyme, mAU, and its expression in baculovirus-insect cells

Nakayama T, Yuasa E, Kanemaru A, Saito M and Saitoh H

Bioengineered, 2014, 5(2): 133-137

Genomic DNAs in a human leukemia cell line unfold after cold shock, with formation of neutrophil extracellular trap-like structures

Kawata J, Kikuchi M and Saitoh H

Biotechnol Lett, 2014, 36(2): 241-250

Antagonistic controls of chromatin and mRNA start site selection by Tup family corepressors and the CCAAT-binding factor

Asada R, Takemoto N, Hoffman CS, Ohta K and Hirota K

Mol Cell Biol, 2015, 35(5): 847-855

The POLD3 subunit of DNA polymerase delta can promote translesion synthesis independently of DNA polymerase zeta

Hirota K, Yoshikiyo K, Guilbaud G, Tsurimoto T, Murai J, Tsuda M, Phillips LG, Narita T, Nishihara K, Kobayashi K, Yamada K, Nakamura J, Pommier Y, Lehmann A, Sale JE and Takeda S

Nucleic Acids Res, 2015, 43(3): 1671-1683

Development of a Targeted Flip-in System in Avian DT40 Cells

Kobayashi K, Fujii T, Asada R, Ooka M and Hirota K

PLoS One, 2015, 10(3): e0122006

Rad18 and Rnf8 facilitate homologous recombination by two distinct mechanisms, promoting Rad51 focus formation and suppressing the toxic effect of nonhomologous end joining

Kobayashi S, Kasaishi Y, Nakada S, Takagi T, Era S, Motegi A, Chiu RK, Takeda S and Hirota K

Oncogene, 2014, doi: 10.1038/onc.2014.371

SUMO-targeted ubiquitin ligase RNF4 plays a critical role in preventing chromosome loss

Hirota K, Tsuda M, Murai J, Takagi T, Keka IS, Narita T, Fujita M, Sasanuma H, Kobayashi J and Takeda S

Genes Cells, 2014, 19(10): 743-754

RNA cytidine acetyltransferase of small-subunit ribosomal RNA: identification of acetylation sites and the responsible acetyltransferase in fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*

Taoka M, Ishikawa D, Nobe Y, Ishikawa H, Yamauchi Y, Terukina G, Nakayama H, Hirota K, Takahashi N and Isobe T

PLoS One, 2014, 9(11): e112156

RNase MRP cleaves pre-tRNASer-Met in the tRNA maturation pathway

Saito Y, Takeda J, Adachi K, Nobe Y, Kobayashi J, Hirota K, Oliveira DV, Taoka M and Isobe T

PLoS One, 2014, 9(11): e112488

Evolution of pre-existing versus acquired resistance to platinum drugs and PARP inhibitors in BRCA-associated cancers

Yamamoto KN, Hirota K, Takeda S and Haeno H

PLoS One, 2014, 9(8): e105724

Molecular basis for SMC rod formation and its dissolution upon DNA binding

Soh YM, Burmann F, Shin HC, Oda T, Jin KS, Toseland CP, Kim C, Lee H, Kim SJ, Kong MS, Durand-Diebold ML, Kim YG, Kim HM, Lee NK, Sato M, Oh BH and Gruber S

Mol Cell, 2015, 57(2): 290-303

Fidelity consequences of the impaired interaction between DNA polymerase epsilon and the GINS complex

Garbacz M, Araki H, Flis K, Bebenek A, Zawada AE, Jonczyk P, Makiela-Dzbenska K and Fijalkowska IJ

DNA Repair (Amst), 2015, doi: 10.1016/j.dnarep.2015.02.007

Crystal structure of the homology domain of the eukaryotic DNA replication proteins Sld3/Treslin

Itou H, Muramatsu S, Shirakihara Y and Araki H

Structure, 2014, 22(9): 1341-1347

Smc5/6-mediated regulation of replication progression contributes to chromosome assembly during mitosis in human cells

Gallego-Paez LM, Tanaka H, Bando M, Takahashi M, Nozaki N, Nakato R, Shirahige K and Hirota T

Mol Biol Cell, 2014, 25(2): 302-317

Structural and functional analysis of Hikeshi, a new nuclear transport receptor of Hsp70s

Song J, Kose S, Watanabe A, Son SY, Choi S, Hong H, Yamashita E, Park IY, Imamoto N and Lee SJ

Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 2015, 71(Pt 3): 473-483

Analytic 3D imaging of mammalian nucleus at nanoscale using coherent x-rays and optical fluorescence microscopy

Song C, Takagi M, Park J, Xu R, Gallagher-Jones M, Imamoto N and Ishikawa T

Biophys J, 2014, 107(5): 1074-1081

Ki67 antigen contributes to the timely accumulation of protein phosphatase 1gamma on anaphase chromosomes

Takagi M, Nishiyama Y, Taguchi A and Imamoto N

J Biol Chem, 2014, 289(33): 22877-22887

Ki-67 is a PP1-interacting protein that organises the mitotic chromosome periphery

Booth DG, Takagi M, Sanchez-Pulido L, Petfalski E, Vargiu G, Samejima K, Imamoto N, Ponting CP, Tollervey D, Earnshaw WC and Vagnarelli P
Elife, 2014, 3, e01641

The *Schizosaccharomyces pombe* Hikeshi/Opi10 protein has similar biochemical functions to its human homolog but acts in different physiological contexts

Oda Y, Kimura M, Kose S, Fasken MB, Corbett AH and Imamoto N

FEBS Lett, 2014, 588(10): 1899-1905

A novel facility for 3D micro-irradiation of living cells in a controlled environment by MeV ions

Mackel V, Meissl W, Ikeda T, Clever M, Meissl E, Kobayashi T, Kojima TM, Imamoto N, Ogiwara K and Yamazaki Y

Rev Sci Instrum, 2014, 85(1): 014302

英文総説

領域内共同研究による英文総説が 1 報発表されました。

Visualization of epigenetic modifications in preimplantation embryos

Kimura H and Yamagata K

Methods Mol Biol, 2015, 1222: 127-147

その他 11 報の英文総説が発表されました。

Nucleosome organization and chromatin dynamics in telomeres

Ichikawa Y, Nishimura Y, Kurumizaka H and Shimizu M

Biomol Concepts, 2015, 6(1): 67-75

Histone modification sensors in living cells

Kimura H and Sato Y

Optical Probes in Biology (Jin Zhang, Sohum Mehta, and Carsten Schultz ed), CRC Press, 2015

Histone modifications associated with cancer cell migration and invasion

Hieda M, Matsuura N and Kimura H

Methods Mol Biol, 2015, 1238: 301-317

Live CLEM imaging to analyze nuclear structures at high resolution

Haraguchi T, Osakada H and Koujin T

Methods Mol Biol, 2015, 1262: 89-103

Current view of the potential roles of proteins enriched on the inactive X chromosome
Nakajima T and Sado T
Genes Genet Syst, 2014, 89(4): 151-157

Reconstitution of nucleocytoplasmic transport using digitonin-permeabilized cells
Kose S, Funakoshi T and Imamoto N
Methods Mol Biol, 2015, 1262: 291-303

Novel approaches for the identification of nuclear transport receptor substrates
Kimura M, Thakar K, Karaca S, Imamoto N and Kehlenbach RH
Methods Cell Biol, 2014, 122: 353-378

Analysis of nucleocytoplasmic transport in digitonin-permeabilized cells under different cellular conditions
Furuta M, Kose S, Kehlenbach RH and Imamoto N
Methods Cell Biol, 2014, 122: 331-352

Cell-fusion method to visualize interphase nuclear pore formation
Maeshima K, Funakoshi T and Imamoto N
Methods Cell Biol, 2014, 122: 239-254

Nucleocytoplasmic transport under stress conditions and its role in HSP70 chaperone systems
Kose S and Imamoto N
Biochim Biophys Acta, 2014, 1840(9): 2953-2960

Biological significance of the importin-beta family-dependent nucleocytoplasmic transport pathways
Kimura M and Imamoto N
Traffic, 2014, 15(7): 727-748

Control of nuclear size by NPC proteins
Takagi M and Imamoto N
Adv Exp Med Biol, 2014, 773: 571-591



和文総説・著書（分担執筆）

22 報

特許

4 件（出願中を含む）

アウトリーチ活動

43 件

受賞

木村 宏
2014 年 7 月 8 日 大阪大学総長顕彰

大川 恭行
2014 年 11 月 1 日 九州大学研究活動表彰

滝沢 琢己
2015 年 3 月 14 日 川野財団 第 15 回小児医学川野賞（小児基礎医学分野）

5. 今後の予定

① 本領域の国際シンポジウムが開催されます。

"Chromatin Structure, Dynamics, and Function"

<http://www.knt-ec.net/2015/iscsdf/>

日時：2015年8月23-26日

会場：淡路夢舞台国際会議場（兵庫県淡路市）

※参加申し込み・演題登録などの詳細についてはウェブサイトをご覧ください。

Invited speakers:

Frederic Berger (GMI, Austria)

Kerstin Bystricky (Univ. Toulouse, France)

Philippe Collas (Univ. Oslo, Norway)

Jessica Downs (University of Sussex, UK)

Roland Foisner (MFPL, Austria)

Peter Fraser (Babraham Inst., UK)

Martin W. Hetzer (Salk Inst., USA)

Anthony Imbalzano (Univ. Mass, USA)

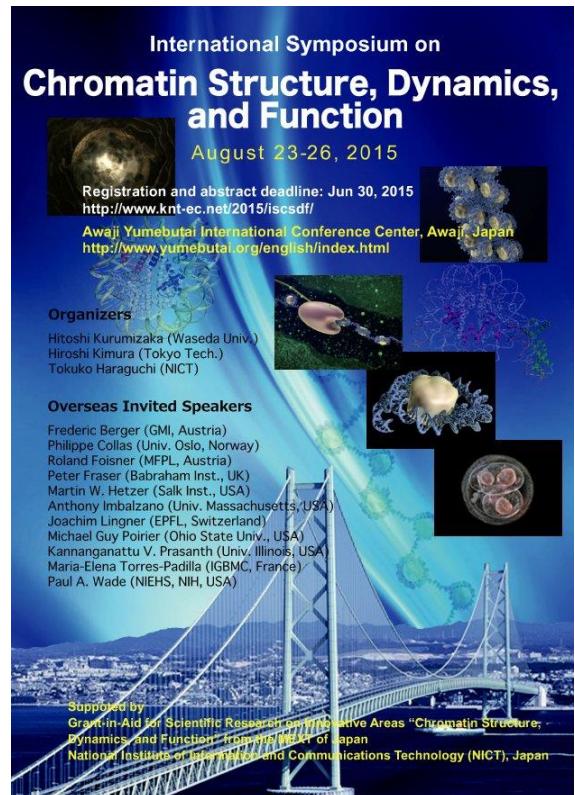
Joachim Lingner (EPFL, Switzerland)

Michael Guy Poirier (Ohio State Univ., USA)

Kannanganattu V. Prasanth (Univ. Illinois, USA)

Maria-Elena Torres-Padilla (IGBMC, France)

Paul A. Wade (NIEHS, NIH, USA)



② 本領域の班会議が開催されます。

日時：2015年5月7-9日

会場：ルスツリゾート（北海道虻田郡留寿都村）

編集後記：本号は年度末に発行する予定でしたが、諸事に忙殺されてかねませんでした。書類を早目に片づけられる能力が欲しいです。昨年度はたくさんの成果が得られ、皆様のご活躍がうかがわれます。また、領域内共同研究による成果も多く発表されています。今年度は中間評価もありますので、引き続頑張っていきましょう。

Hiki