

課題番号	LS078
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	流産リスク管理に向けた配偶子異数体形成過程の基礎的研究
研究機関・ 部局・職名	大阪大学・蛋白質研究所・准教授
氏名	篠原 美紀

1. 当該年度の研究目的

前年度までに、キアズマ形成制御に中心的な役割を果たす Msh4/5 複合体が、9-1-1 複合体の機能に依存し、さらに Zip3 の C 末端領域の機能に依存して染色体腕部の DNA 二重鎖切断部位にリクルートされることを明らかにした。そこで 9-1-1 複合体と Zip3 の C 末端領域と Msh4/5 の 3 者のキアズマ形成制御における機能について翻訳後修飾に注目して解析を行った。さらに、NBS 疾患モデル酵母においては減数分裂期 DSB の減少が起こるが、段階的に核あたりの DSB 量を減らしてもキアズマ形成（交叉型組換え形成）がホメオスタシスを示すことを明らかにし、そのとき Msh4/5 の染色体上での量もキアズマ形成と比例関係があることを明らかにした。さらに、NBS 疾患モデル酵母 (Xrs2-FHA 変異) においては Tel1 (ヒト ATM) の DNA 傷害応答経路に欠損があり、染色体不安定性維持にも重要な機能が失われている可能性が示唆された。その結果を踏まえ、キアズマのホメオスタシス機能の分子メカニズムを明らかにするとともに、関連する機構として DNA 傷害応答経路における Xrs2-FHA の機能を明らかにする。

2. 研究の実施状況

減数分裂期特異的にキアズマ形成に重要な機能を果たす、シナプトネマ複合体構成因子である Zip3 と DNA 損傷応答因子の 9-1-1 クランプとの間の直接相互作用について、精製した Zip3 タンパク質を用いて明らかにした。また、9-1-1 複合体の構成因子の一つが減数分裂期特異的に Mec1 によってリン酸化制御を受けることを見いだした。さらにそのリン酸化のためにはそれに先だって、減数分裂期特異的な初期リン酸化が必要であることを見いだした。この結果は、減数分裂期特異的な翻訳後修飾が減数分裂期に特化した 9-1-1 複合体の機能がある可能性を示唆している。また、細胞あたりの減数分裂期組換えの総量が減少する変異酵母では、組換え初期反応に応答した Tel1/ATM の活性化の維持に欠損があることを明らかにした。しかしそのとき、キアズマホメオスタシスには欠損を示さないことから、Tel1 の活性維持はホメオスタシス維持に必要なと考えられた。一方で、組換えが起こらない酵母変異株でもキアズマ形成制御に必要な Zip3 の局在は正常であったことから、組換え中間体ができる以前に制御に必要な因子を配置し、その後の翻訳後修飾などの制御が重要である可能性があることを示した。

さらに、減数分裂期組換えにおいて、ゲノム不安定化の原因となると考えられている異所性の組換

様式19 別紙1

えが形成されるメカニズムについて解析を行い、複数の組換え経路によって異所性の組換えを抑えて、ゲノムを正常に保とうとするメカニズムがあることを明らかにした。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計3件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計3件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Shinohara M.</u>* and A. Shinohara*, <i>Multiple pathways suppress non-allelic recombination during meiosis in Saccharomyces cerevisiae. PLoS One</i>, 2013, 8; p 0063144 2. Sasanuma H., M. Tawaramoto, H. Hosaka, J. P. Lao, E. Sanda, E. Yamashita, N. Hunter, <u>M. Shinohara</u>, A. Nakagawa and A. Shinohara*, <i>Psy3-Csm2-Shu1-Shu2 is a new Rad51 mediator with Rad51/RecA-like folds., Nature Commun.</i>, 2013, 4; p. e2678 3. Matsuzaki, K., M. Terasawa, D. Iwasaki, M. Higashide and <u>M. Shinohara</u>*, <i>Cyclin-dependent kinase-dependent phosphorylation of Lif1 and Sae2 controls imprecise nonhomologous end joining accompanied by double-strand break resection. Genes Cells.</i> 17, 2012, p. 473-493. <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計20件</p>	<p>専門家向け 計19件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Daichi Iwasaki, Masahiro Terasawa, <u>Miki Shinohara</u>, “Forkhead-associated domain of Xrs2, a component of Mre11-Rad50-Xrs2 complex, suppresses imprecise nonhomologous end joining through Tel1 kinase activity”, EMBO Workshop Recombination Mechanisms and Genome Instability, Poster presentation, 21-25 May 2012, Jerez de la Frontera, Spain 2. <u>篠原美紀</u>、「DNA損傷応答センサーとDNA二重鎖切断修復メカニズム」、「細胞周期フロンティア—増殖と分化相関」公開シンポジウム、招待講演、2012.8.30-31、東工大蔵前会館 3. 辻岳志、篠原彰、<u>篠原美紀</u>、「出芽酵母 9-1-1 複合体の減数分裂期における機能解析」、酵母遺伝学フォーラム第45回研究報告会、ポスター発表、2012.9.4-8、京大宇治キャンパスおうばくプラザ 4. 林原加代子、辻岳志、篠原彰、<u>篠原美紀</u>、「出芽酵母 9-1-1 複合体は ZMM/SIC のリクルートを介して組換えを制御する」、酵母遺伝学フォーラム第45回研究報告会、口頭発表、2012.9.4-8、京大宇治キャンパスおうばくプラザ 5. <u>篠原美紀</u>、岩崎大地、名定優、「出芽酵母Xrs2のFHAドメインはTel1/ATMの活性を介してNHEJを制御する」、酵母遺伝学フォーラム第45回研究報告会、口頭発表、2012.9.4-8、京大宇治キャンパスおうばくプラザ 6. <u>篠原美紀</u>、「出芽酵母Xrs2のFHAドメインのTel1を介したNHEJ制御メカニズム」、日本放射線影響学会第55回大会、ワークショップ「生体の多様性とゲノム安定性の

	<p>維持」、2012. 9. 6-8、東北大学</p> <p>7. 東出望花、篠原美紀、「出芽酵母の減数分裂期組換えにおける構造特異的エンドヌクレアーゼ活性調節サブユニットSlx4の新しい機能」、日本遺伝学会第84回大会、口頭発表、2012. 9. 24-26、九州大学医学部（福岡）</p> <p>8. <u>篠原美紀</u>、岩崎大地、名定優、「出芽酵母Xrs2のFHAドメインはTel1活性の維持機能を介して非相同末端結合を制御する：FHA domain of yeast Xrs2 is involved in maintenance of Tel1 kinase activity and controls NHEJ fidelity」、日本遺伝学会第84回大会、口頭発表、2012. 9. 24-26、九州大学医学部（福岡）</p> <p>9. <u>Miki Shinohara</u>, “FHA domain of yeast Xrs2/Nbs1 controls Ku-dependent end joining through maintenance of Tel1/ATM activity”, The 8th 3R International symposium, Invited speaker, 2012.11.25-28, Awaji island</p> <p>10. Kayoko Hayashihara, Gakushi Tsuji, Akira Shinohara, <u>Miki Shinohara</u>, ”9-1-1 clamp promotes the recruitment of ZMM/SIC and regulates the formation of crossovers in budding yeast”, The 8th 3R International symposium, Poster presentation, 2012.11.25-28, Awaji island</p> <p>11. Gakushi Tsuji, Akira Shinohara, <u>Miki Shinohara</u>, “Function analysis of 9-1-1 complex in meiosis of <i>Saccharomyces cerevisiae</i>”, The 8th 3R International symposium, Poster presentation 2012.11.25-28, Awaji island</p> <p>12. <u>Miki Shinohara</u>, “FHA domain of yeast Xrs2 controls NHEJ through Tel1/ATM activity”, Seminar at Friedrich Miescher Institute, 2012.10.16, Barseel, Switzerland</p> <p>13. <u>篠原美紀</u>、林原加代子、辻 岳志、東出望花、「減数分裂期交叉型組換えホメオスタシス制御の分子メカニズム」、分子生物学会第35回年会、ワークショップ、2012.12.11-14、マリンメッセ福岡</p> <p>14. 林原加代子、辻岳志、<u>篠原美紀</u>、「出芽酵母9-1-1複合体はZMM/SICタンパク質のリクルートを介して組換えを制御する」、分子生物学会第35回年会、ワークショップ、2012. 12. 11-14、マリンメッセ福岡</p> <p>15. 寺澤 匡博、篠原 彰、<u>篠原 美紀</u>、「非相同末端結合因子XRCC4のM期における染色体分配に対する機能/The functions of XRCC4 in chromosome segregation during mitosis」、分子生物学会第35回年会、ポスター、2012. 12. 11-14、マリンメッセ福岡</p> <p>16. 東出望花、<u>篠原美紀</u>、「減数分裂期組換え初期過程における構造特異的エンドヌクレアーゼScaffoldタンパク質Slx4の機能解析」、分子生物学会第35回年会、ポスター、2012. 12. 11-14、マリンメッセ福岡</p> <p>17. 辻岳志、篠原彰、<u>篠原美紀</u>「出芽酵母9-1-1複合体の減数分裂期における機能解析/Functional Analysis of 9-1-1 complex in meiosis of <i>Saccharomyces cerevisiae</i>」、分子生物学会第35回年会、ポスター、2012. 12. 11-14、マリンメッセ福岡</p> <p>18. 寺澤匡博、篠原彰、<u>篠原美紀</u>「非相同末端結合因子XRCC4のM期における染色体分配に対する機能」、第30回染色体ワークショップ・第11回核ダイナミクス研究会、口頭発表、2012. 12. 19-21、淡路夢舞台国際会議場</p> <p>19. <u>篠原美紀</u>、林原加代子、辻岳志、「シナプトネマ複合体形成における9-1-IDNA損傷チェックポイントクランプの機能」、第30回染色体ワークショップ・第11回核ダイナミクス研究会、ポスター、2012.12.19-21、淡路夢舞台国際会議場</p>
--	--

様式19 別紙1

	<p>一般向け 計1件</p> <p>1. 篠原美紀、「染色体不安定性症候群の分子病態の解明を目指して」、最先端酵素学セミナー、2013.2.18、徳島大学疾患酵素学研究センター</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>大阪大学・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next 大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室・最先端・次世代研究開発支援プログラム http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>1. JST 女子中高生理系進路選択支援事業「第7回女子中高生のための関西科学塾」、研究発表指導および研究発表審査員、進路指導メンター、実行委員、2013.3.16-17、奈良女子大学 (参加人数 中高校生50名、引率教員・保護者21名)</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	103,000,000	60,524,000	21,238,000	21,238,000	0
間接経費	30,900,000	18,157,200	6,371,400	6,371,400	0
合計	133,900,000	78,681,200	27,609,400	27,609,400	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	2,641,469	21,238,000	0	23,879,469	23,620,929	258,540	0
間接経費	17,830,145	6,371,400	0	24,201,545	8,753,030	15,448,515	0
合計	20,471,614	27,609,400	0	48,081,014	32,373,959	15,707,055	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	8,005,325	蛍光顕微鏡用照明装置、実験試薬等
旅費	1,604,660	研究成果発表旅費等
謝金・人件費等	13,169,064	研究員人件費、
その他	841,880	学会参加費、試料作製依頼等
直接経費計	23,620,929	
間接経費計	8,753,030	
合計	32,373,959	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
蛍光顕微鏡用照明 装置	Lumen Dynamics 社製 X-Cite	1	2,314,200	2,314,200	2013/2/26	大阪大学
				0		
				0		