

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) 実績報告書

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. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

| | 交付決定額 | 交付を受けた額 | 利息等収入額 | 収入額合計 | 執行額 | 未執行額 | 既返還額 |
|------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|------|------|
| 直接経費 | 103,000,000 | 103,000,000 | 0 | 103,000,000 | 103,000,000 | 0 | |
| 間接経費 | 30,900,000 | 30,900,000 | 0 | 30,900,000 | 30,900,000 | 0 | |
| 合計 | 133,900,000 | 133,900,000 | 0 | 133,900,000 | 133,900,000 | 0 | 0 |

3. 執行額内訳

(単位:円)

| 費目 | 平成22年度 | 平成23年度 | 平成24年度 | 平成25年度 | 合計 |
|---------|---------|------------|------------|------------|-------------|
| 物品費 | 600,950 | 42,245,154 | 8,005,325 | 6,991,604 | 57,843,033 |
| 旅費 | 0 | 1,283,660 | 1,604,660 | 1,044,050 | 3,932,370 |
| 謝金・人件費等 | 0 | 13,593,901 | 13,169,064 | 13,206,707 | 39,969,672 |
| その他 | 1,050 | 157,816 | 841,880 | 254,179 | 1,254,925 |
| 直接経費計 | 602,000 | 57,280,531 | 23,620,929 | 21,496,540 | 103,000,000 |
| 間接経費計 | 0 | 327,055 | 8,753,030 | 21,819,915 | 30,900,000 |
| 合計 | 602,000 | 57,607,586 | 32,373,959 | 43,316,455 | 133,900,000 |

4. 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 |
|----------------------|---|----|--------------|--------------|------------|---------|
| リアルタイムPCRシステム | ABI社製 StepOnePlus | 1 | 4,998,000 | 4,998,000 | 2011/6/28 | 大阪大学 |
| 高解像度3Dライブセル光学顕微鏡 | Applied Precision社製 DeltaVision | 1 | 20,065,500 | 20,065,500 | 2011/12/26 | 大阪大学 |
| レーザー装置 | セキテック フォトキネティック社製375nm Photokinetic レーザー | 1 | 8,410,500 | 8,410,500 | 2012/1/19 | 大阪大学 |
| DNA解析システム | Filgen社製 Miseq CLC Genetic Workbench解 | 1 | 3,990,000 | 3,990,000 | 2012/2/24 | 大阪大学 |
| 蛍光顕微鏡用照明装置 | Lumen Dynamics社製 X-Cite LED1 | 1 | 2,314,200 | 2,314,200 | 2013/2/26 | 大阪大学 |
| CDiGit Blot Scanner | エムエステクノシステム社製 | 1 | 877,800 | 877,800 | 2013/8/26 | 大阪大学 |
| EVOS FL セルイメージングシステム | 米国ライフテック ジーンズ社製 AMF4300 | 1 | 1,984,500 | 1,984,500 | 2013/12/13 | 大阪大学 |

5. 研究成果の概要

①9-1-1複合体のサブユニットDdc1タンパク質のC末端にあるテール構造部位が、減数分裂期交叉型組換え体形成に必須のZip3のローディングに必要であることを明らかにした。②Zip3のC末端領域は減数分裂期組換え制御に機能すると考えられているMsh4/Msh5複合体の染色体局在に必須であることを明らかにした。①と②の結果をあわせると、Ddc1のC末端テールがZip3を組換え部位に安定に局在させ、Zip3のC末端がそこにMsh4/Msh5を呼び込み、交叉型組換えを促進するという分子メカニズムが存在することを示している。③減数分裂期組換えの開始反応であるDNA二重鎖切断の染色体あたりの数を80~40%に減少させると、染色体上のZip3タンパク質の量は減少に応じて減少するが、Msh5の量は恒常性を示し、これは遺伝学的交叉型組換え頻度の減少傾向と一致した。この結果は、交叉型組換えの場所を決めているのはMsh4/Msh5複合体であるという我々の仮説を強く支持している。④今まで機能があまり知られていなかった、ヒストンH3K79のメチル化が直接、減数分裂期DSB形成の制御に関わっていることを明らかにし、あらたなエピジェネティックコードの減数分裂期組換え制御における機能を明らかにした。また、減数分裂期組換えに関わる新しいRad51リコンビナーゼのアクセサリ因子の構造を明らかにした。

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)
研究成果報告書**

本様式の内容は一般に公表されます

| | |
|----------------------------|---|
| 研究課題名 (下段英語表記) | 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 |
| | Molecular study on the formation of aneuploidy in gametes for evaluation on risk of miscarriage |
| 研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記) | 大阪大学・蛋白質研究所・准教授 |
| | Osaka University, Institute for Protein Research, Associate Professor |
| 氏名 (下段英語表記) | 篠原美紀 |
| | Miki SHINOHARA |

研究成果の概要

(和文):

異数体配偶子形成を抑えるための減数分裂期の染色体分配制御に必須のキアズマ形成に必要な因子の同定とその機能について明らかにした。具体的には、染色体転座に繋がる異所性の組換えを抑える複数の経路とその関係について明らかにし、減数分裂期組換えに必須の Rad51 パラログの構造を世界ではじめて明らかにした。さらに、キアズマ形成の初期反応においてヒストン H3K79 のメチル化が機能していることを明らかにした。また、DNA 損傷応答反応に機能する因子が実は減数分裂期においては組換えと染色体構造の共役を担い、キアズマの数と配置の制御に必要であることを示した。また、キアズマの数の恒常性制御は染色体部位によって効果が異なること、さらに染色体サイズの違いによるキアズマ形成の補正に相同染色体対合が必要であることを示した。これらの成果は異数体配偶子形成の原因の理解に大きく寄与したと考えている。

(英文):

We identified several factors, which are involved in regulation of chiasma formation and revealed mechanisms to repress aneuploidy gametes generation. We revealed multiple pathways to suppress ectopic recombination, which always promote chromosome translocations, and relationship among the pathways. In addition, we resolved a crystal

様式21

structure of Rad51 paralogs, which are essential for meiotic crossover formation. Moreover, we showed histone H3K79 methylation is involved in regulation of DSB formation. Moreover, we showed the 9-1-1 complex, which is required for DNA damage response in mitotic phases, functions in coordination between the crossover formation and a meiosis specific chromosome structure formation. In addition, 9-1-1 complex facilitates crossover control, which regulates the number and the distribution of chiasmata on each chromosome. We revealed that the effects of homeostasis are different in each part of chromosome. Finally, we showed chromosome synapsis is required for chromosome size bias of crossover frequency. These outcomes contributed for understanding of generality of aneuploidy generation mechanism.

1. 執行金額 133,900,000 円
(うち、直接経費 103,000,000 円、間接経費 30,900,000 円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

3. 研究目的

流産は妊娠した女性の約10%が経験する。最近の研究で流産の原因の多くが、卵子側の染色体異常によって胎児の発生の初期段階で致死になるためである。そのうちの一部は卵子形成時の減数分裂期の染色体分配の不分離に原因があると考えられる。

体細胞分裂期にはコヒーシによって物理的に接着している姉妹染色体を分配するのに対して、減数第一分裂期には空間的に離れて存在し物理的接着もない相同染色体同士のキアズマによる物理的接着を利用して分配する。キアズマは相同染色体の間でおこる交叉型組換えによって形成される。つまり、Spo11 タンパク質によって自らの染色体を切断しそれを相同染色体の間の交叉型組換えによって再結合することでキアズマを形成する。まず、自らの染色体を切断する(DNA二重鎖切断; DSB)ことから、その修復に失敗すると染色体異常を引き起こすと考えられる。また、数百カ所のDSBから開始する交叉型組換え形成反応は最終的には、染色体あたりひとつのキアズマへと変換される。もしも染色体上にひとつもキアズマができなかった場合には減数第一分裂期で染色体不分離となり、染色体数異常を引き起こすと考えられる。つまり、流産と異数体性先天性疾患の2大要因は減数分裂期組換えの異常と減数分裂期チェックポイントの欠損であるといえる。

一方、外的要因によって引き起こされたDNA二重鎖切断は、体細胞分裂時には修復されるべきDNA上の傷である。その修復に失敗すると、染色体不安定性を引き起こし発がんの要因となることがわかっている。このように、DSBには体細胞分裂期の修復すべき傷という負の面と、減数分裂期の次世代に命をつなぐために必須の手段という正の面を持っている。システムとしては体細胞分裂期のDSB修復機構が先にあって、それを修飾した形で減数分

様式21

裂期組換えを進化させてきたと考えられているが、減数分裂期特異性を獲得するための「修飾」とは何か？その分子メカニズムについての詳細はわかっていない。

減数分裂期交叉型組換えは、お互いに干渉(interference)を示すことで、染色体上での数と空間的配置をコントロールしている。そして、この制御機構こそが減数分裂期での正確な染色体分配を保証する機構である。私はこれまで、干渉に関わる因子として、①減数分裂期特異的な組換え因子 Dmc1 と Tid1、②シナプトネマ複合体因子 Msh4/5 複合体、そして③DNA 損傷応答に関わる Mec1 キナーゼおよび 9-1-1 複合体の3種の因子が必要であることを明らかにした。しかし、この3種の因子がお互いにどのように関わるのか、またキアズマ形成(=交叉型組換え形成)における具体的な役割がまだわかっていない。また、これら3種の因子は減数分裂期において細胞周期停止とそのモニターシステムであるチェックポイント機構にも関わっていることがわかっている。本申請ではこれらの機能的関係を明らかにし、交叉型組換えにおけるこれら因子の具体的機能と分子メカニズムを明らかにする。結果として、キアズマの染色体上での数と空間的配置の制御メカニズムの過程の全容を明らかにする。

また一方では、体細胞分裂期の組換え修復機構は発がん抑制に関わっている。減数分裂期のキアズマ形成に重要な Mec1 キナーゼ(ATM/ATR キナーゼ)は高発がん性遺伝病の原因遺伝子として有名である。我々は、同じく高発がん性遺伝病(NBS)の原因遺伝子 NBS1の疾患モデル酵母の作成に成功しておりその体細胞分裂期でのDSB修復における機能について解析を行ってきた。最近の研究から、減数分裂期においては疾患モデル酵母が減数分裂期のDSBの数と空間配置の制御に欠損を示し、さらに減数分裂期特異的な染色体高次構造体シナプトネマ複合体形成とチェックポイント機構に欠損を示すことを見いだした。まずは、疾患モデル酵母を用いて、減数分裂期での欠損の原因を明らかにし減数分裂期チェックポイント機構とシナプトネマ複合体の関係とそこに関わる新規因子について明らかにする。

一方で、がん細胞では体細胞分裂期で減数分裂期特異的なタンパク質が発現している例も報告されており、我々が以前開発したヒト培養細胞でのDSB導入/修復過程検出系を用いて減数分裂期組換え特異的な因子を体細胞で強制発現させたときにDSB修復のモードが減数分裂期型に変化するのか、さらにゲノム不安定性への寄与についても解析を行う。これら解析により発がん配子形成との機能的な関わりや、遺伝的組換えの減数分裂期と体細胞分裂期での反応の違いを生み出す「修飾」のキーファクターを明らかにできる。また、この結果は100年以上も謎とされてきた交叉型組換えの「干渉」機構の解明とその破綻に起因する減数分裂期染色体不分離による疾患や流産の原因遺伝子の特定につながり、その診断と治療を含めた対処法に応用できると考えている。一方で体細胞分裂期での染色体異常による発がんの分子メカニズムの解明に寄与できると考えている。

4. 研究計画・方法

様式21

キアズマの空間的配置と数は染色体あたり1カ所と厳密に決まっている。しかし、その開始反応である Spo11 タンパク質による DSB 導入数はその10倍以上になる(Moens et al., 2002)。つまり、DSB がキアズマに変換される過程で数の調整が行われていることになる。また、その一方で、染色体のサイズによらずキアズマが必ず染色体あたり1カ所形成される「保証(Crossover assurance)」と呼ばれる機構が存在すると考えられている。また、同一染色体上に複数のキアズマができないようにする、あるいは、まれに同じ染色体上で複数のキアズマができるときには必ずお互いに十分な距離をおいて存在することが知られている。これは「干渉 (Crossover Interference)」と呼ばれる制御機構による。キアズマの数と空間的配置の制御は保証と干渉のバランスによって行われていると考えられているが、具体的な分子メカニズムについてはほとんどわかっていない。しかし、このメカニズムの破綻は減数第一分裂での染色体の不分離を引き起こし不妊や流産、染色体異常の原因となる。

いままでの研究から、干渉に関わる因子として、①減数分裂期特異的な組換え因子 Dmc1 と Tid1、②シナプトネマ複合体因子 Msh4/5 複合体、そして③DNA 損傷応答に関わる Mec1 キナーゼおよび 9-1-1 複合体の3種の因子が必要であることを明らかにした。これら3種の因子の機能的関係とキアズマ形成における具体的な機能、さらに減数分裂期チェックポイントとの関係を明らかにするために以下の各項目についての研究を行う。

(1) 9-1-1 複合体の減数分裂期キアズマ形成における機能とシナプトネマ複合体因子

9-1-1 複合体は PCNA 様クランプを形成することが知られており、DNA 上に必要な因子をリクルートする機能があると予想される。減数分裂期では何をリクルートしてくるのか？体細胞分裂期には DNA 損傷チェックポイントに機能する 9-1-1 複合体だが減数分裂期ではチェックポイントには機能しない。Msh4/5 の染色体上へのリクルートが干渉作用において重要であること(Shinohara et al., 2008)、PCNA と Msh2/6 の相互作用のアナロジーから 9-1-1 複合体がリクルートするのはシナプトネマ複合体因子のひとつ、Msh4/5 複合体ではないかと考えている。相互作用について詳細に検討を行い、9-1-1 複合体の減数分裂期組換えにおける具体的な機能を明らかにする。

(2) NBS 疾患モデル酵母の減数分裂期における欠損についての解析

疾患モデル酵母の減数分裂期組換えについて解析を行った結果、交叉型組換え形成には欠損は見られないが、減数分裂期組換えの初期反応である DSB 導入効率の低下が見られた。このモデル酵母を用いて、インプットとしての DSB 導入効率が低下した場合のキアズマ形成の負の制御機構である「干渉」機構がどのように変化するかについて解析を行う。具体的には遺伝的組換え頻度を我々が作成した指示酵母株を用いて解析し、さらに干渉機構に関与すると考えられている3種の因子の染色体上分布と染色体ダイナミクスについて、質的・量的変化の相関関係を明らかにする。

(3) ATR/ATM 様キナーゼ Mec1 の減数分裂期におけるリン酸化ターゲットの検索

Mec1 はタンパク質リン酸化酵素であることからそれ自身が組換え制御を行うというよ

様式21

りは、リン酸化を介してターゲットタンパク質の活性制御を行っている可能性が高い。また、9-1-1 複合体や Msh4/5 変異株とは異なり、交叉型組換え欠損は示さずにその空間的配置にのみ関わる。このことから、組換え制御においては組換え中間体同士の協調性に関わるシグナル伝達に関わる可能性が高い。つまり、ターゲットは直接組換え反応に関わる因子であると考えられることから、*mec1* 変異株における DSB 末端への組換え因子の集積状態の変化を、ChIP 法を用いて明らかにする。さらに集積した組換えタンパク質のリン酸化状態について解析を行い、ターゲットを明らかにする。

(4) ヒストン H3 のメチル化と減数分裂期チェックポイント

Dot1 は出芽酵母におけるヒストン H3K79 のメチル化酵素である。Dot1 の機能機能が減数分裂期のパキテン期チェックポイントに必要であることがわかっている。我々が解析を行った結果、Dot1 の機能はチェックポイントと同時にシナプトネマ複合体形成の特に軸形成の過程に関与していることを見いだしている。①H3K79 のメチル化つまりエピジェネティックなヒストン修飾がシナプトネマ複合体形成制御に必要である、②H3K79 のメチル化以外の Dot1 の機能がありそれがシナプトネマ複合体形成制御に必要である可能性がある。どちらにしても全く新しい減数分裂期染色体構造制御であるのでその可能性について検討を行う。出芽酵母ではヒストン H2B のユビキチン化(Yamashita et al., 2004) あるいは H3K79 のメチル化といったエピジェネティックなヒストン修飾が DSB 導入の頻度とシナプトネマ複合体形成に関与している。そこで、体細胞分裂期でのヒストンコードと外因的な DSB 導入頻度との相関関係について、CHIP シークエンス法を用いてそれぞれの全ゲノム上での分布について比較を行い、転座の高頻度部位と減数分裂期での組換えホットスポットとを比較する。

(5) 減数分裂期特異的因子の体細胞分裂期組換え修復における影響について

ほ乳類細胞の間期においては父方母方由来の相同染色体同士あるいは異なる染色体同士はテリトリーが厳密に決まっており、物理的に離れて存在している。転座に代表される染色体不安定性はそのテリトリーを超えて相同組換えによって引き起こされる可能性がある。この状況は、普段物理的な接着のない相同染色体間での組換えを行う減数分裂期組換えと状況が酷似している。実際にある種のがん細胞では通常、抑制されているはずの減数分裂期特異的な因子が発現している例が報告されている(Tureci et al., 1998)。特にシナプトネマ複合体には相同染色体同士を接着させる機能があり、体細胞分裂期にシナプトネマ複合体因子を発現させたときに組換え修復がどのように変化するのか解析を行う。特に生細胞を用いて DSB 導入後の染色体の動的変化について経時観察を行い、空間的配置変化について明らかにする。さらに、我々が開発した制限酵素を用いたヒト培養細胞での部位特異的 DSB 検出系を用いて修復様式の違いについて詳細に解析を行う。

5. 研究成果・波及効果

本研究により異数体配偶子形成を抑えるための減数分裂期の減数第一分裂期における染色

様式21

体分配制御に必須のキアズマ形成に必要な因子の同定とその機能について明らかにした。

具体的には、染色体転座に繋がる異所性の組換えを抑える複数の経路、つまり組換え酵素 (Rad51, Dmc1 経路)、シナプトネマ複合体 (ZMM 因子) 経路、チェックポイント (9-1-1 複合体) 経路が存在すること、さらに、それぞれの経路の関係について明らかにし複数の経路が幾重にもコヒーシスが介在しない減数分裂期組換えの正確性を保証していることを明らかにした。また、減数分裂期組換えに必須のリコンビナーゼである Rad51 パラログ、PCSS (Psy3-Csm2-Shu1-Shu2) 複合体の X 線構造を世界ではじめて明らかにした。また、PCSS 複合体の減数分裂期交叉型組換え形成における機能を明らかにし、Rad51 フィラメントのキャッピング構造としての機能モデルを提唱した。現在、この研究についてはマウスを使った研究が進行中である。また、減数分裂期の Rad51 フィラメントの除去に Srs2 ヘリカーゼが機能することを示し、交叉型組換えを正しく進行させるためには積極的な Rad51 の除去が必要であることを明らかにした。

さらに、キアズマ形成の初期反応である DNA 二重鎖切断導入においてメチルトランスフェラーゼ Dot の介在するヒストン H3K79 のメチル化が既知の H3K4 メチル化による機能とは独立に必要であることを明らかにした。また、それぞれのヒストンメチル化を必要とする染色体領域が異なること、特に染色体サイズによって依存度が異なることがわかった。また、体細胞分裂期には DNA 損傷応答反応に機能する 9-1-1 複合体因子が、実は減数分裂期においては組換えとシナプトネマ複合体と呼ばれる染色体構造体形成の共役を担い、同じ染色体上でのキアズマの数と配置の制御に必要であることを示した。つまり、結果として、9-1-1 変異においては交叉型組換えの制御が起らず減数第一分裂期での染色体分配がランダムになり孢子生存率が低くなることを明らかにした。また染色体ごとのキアズマの数は一定に保たれることが知られており、交叉型組換えホメオスタシス (恒常性) と指定知られているが、NBS 疾患モデル酵母を用いて解析を行った結果、キアズマの数の恒常性制御は染色体部位によって効果が異なり、特にセントロメア近傍では初期反応である DSB の減少に伴って交叉型組換えが減少してしまうことがわかった。さらに、ATM/ATR キナーゼのリン酸化ターゲットについて、ATM/ATR 変異が組換え反応を ZMM 因子特異的経路に誘導することに必須であることを見いだしたことから、その機能に必須である SGS1 ヘリカーゼが組換え制御ターゲットとして考えられる結果をすでに得ている。さらに、ATM/ATR によるリン酸化シグナルが SlxLX4/Rtt107 によって制御を受ける可能性について検討し、ATM/ATR によるリン酸化ターゲットでもある Slx4 はリン酸化シグナルの抑制に機能することを見いだした。しかし、通常のパートナーである Rtt107 はその機能には必要ではなく、減数分裂期特異的なパートナーの存在が示唆された。またこのような機能を持つ Slx4 のキアズマ分布について調べたところ、通常はキアズマができにくいセントロメア領域で上昇することがわかり分布の制御に関わるということが示唆された。同様の結果は線虫でも見られることがわかり、生物種間で保存されていることからその機能がどのようにしてもたらされるのか解析を行う必要がある。

様式21

また、キアズマの染色体上での数と配置の恒常性維持機構に関してシナプトネマ複合体を構成する ZMM 因子の Msh4/Msh5 複合体の染色体上の数が恒常性を示すことから、この因子がリクルートされるか否かが将来その部位がキアズマになるかどうかを規定していると考えられた。この結果は、共同研究者の結果よりマウスでも保存されていることが確認されている。また、短い染色体でも長い染色体でも必ず一カ所のキアズマ形成を保証することが異数体配偶子を抑制するためには重要である。この染色体サイズの違いによるキアズマ形成の補正に相同染色体対合の伸長が必要であることを示した。一方で、対合はキアズマの数と配置には必要ではなく、酵母からヒトまで保存されている染色体対合を担うシナプトネマ複合体の伸長がどのような機能を持つのか今までわからなかったが、我々の研究からその機能についての理解の糸口が見えたと考えている。これらの成果は異数体配偶子形成の原因の理解に大きく寄与したと考えている。

さらに、ヒトの培養細胞を用いて M 期での染色体分配と DSB 形成あるいは修復を解析する検出系として、減数分裂期 DSB 導入酵素であるトポイソメラーゼ様 Spo11 と同様に DSB 末端にタンパク質アダクトが蓄積するエトポシドを用いた系を新規に開発した。今後この系を用いて減数分裂期特異的染色体構造と組換えを制御するシナプトネマ複合体因子を発現させたときの染色体不安定化について明らかにできることが期待される。

6. 研究発表等

| | |
|----------------------|---|
| <p>雑誌論文 計7件</p> | <p>(掲載済み一査読有り) 計7件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Rao H. B. D. P., <u>M. Shinohara</u> and A. Shinohara*, <i>Mps3 SUN domain is important for chromosome motion and juxtaposition of homologous chromosomes during meiosis. Genes Cells</i> 16, 2011, p. 1081-1096. (http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2443.2011.01554.x/full) 2. 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. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=22563681) 3. <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 (http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0063144) 4. 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. 1676 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=23575680) 5. Tsukamoto, Y., C. Katayama, <u>M. Shinohara</u>, A. Shinohara, S. Maekawa, M. Miyamoto*, <i>The small GTPase Rab5 homologue Ypt5 regulates cell morphology, sexual development, ion-stress response and vacuolar formation in fission yeast. Biochem Biophys Res Commun</i>, 441(4): p. 867-72. (2013) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24211211) 6. Sasanuma, H., Y. Furihata, <u>M. Shinohara</u>, A. Shinohara*, <i>Remodeling of the Rad51 DNA strand-exchange protein by the Srs2 helicase. Genetics</i>, 194(4): p. 859-72. (2013) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23770697) 7. Bani Ismail, M., <u>M. Shinohara</u> and A. Shinohara*, <i>Dot1-dependent histone H3K79 methylation promotes the formation of meiotic double-strand breaks in the absence of histone H3K4 methylation in budding yeast. PLoS ONE</i>, 9(5): e96648. (2014) doi:10.1371/journal.pone.0096648 <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50件</p> | <p>専門家向け 計47件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 寺澤匡博、松寄健一郎、篠原美紀、「CDK による非同末端結合の細胞周期依存的制御解析」、日本遺伝学会第83回大会、京都大学、2011.9.20-22 2. 篠原美紀、篠原彰、「減数分裂期交叉型組換えの数と配置制御の分子メカニズム」、第44回酵母遺伝学フォーラム、2011.9.5、九州大学 3. 篠原美紀、林原加代子、篠原彰、「シナプトネマ複合体形成における 9-1-1DNA 損傷チェックポイントクランプの機能」、第21回 DNA 複製・組換え・ゲノム安定性ワークショップ(九州大学、2011.10.25-27、サンピア福岡) 4. 寺澤匡博、松寄健一郎、篠原彰、篠原美紀、「非同末端結合因子 Xrcc4 の S/G2 期における役割」、第21回 DNA 複製・組換え・ゲノム安定性ワークショップ、2011.10.25-27、サンピア福岡 5. 林原加代子、篠原彰、篠原美紀、「減数分裂期進行における Zip3 の機能解析」、第21回 DNA 複製・ |

| | |
|-----|--|
| | 組換え・ゲノム安定性ワークショップ、2011.10.25-27、サンピア福岡 |
| 6. | 岩崎大地、篠原彰、篠原美紀、「非相同末端結合の経路選択における Xrs2 の FHAドメインの役割」、第21回 DNA複製・組換え・ゲノム安定性ワークショップ、2011.10.25-27、サンピア福岡 |
| 7. | Mika Higashide and <u>Miki shinohara</u> , “A novel function of Slx4 in meiotic recombination”, IPR retreat.2011.11.28, Awaji Islnad international Conference Center. |
| 8. | Kenichiro Matsuzaki, Masahiro Terasawa, Daichi Iwasaki and <u>Miki Shinohara</u> , “Cyclin-dependent protein kinase (CDK) regulates the non-homologous end joining through the phosphorylation of Lif1 protein, a Ligase IV partner, in budding yeast.”、第34回日本分子生物学会年会、ワークショップ、2011.12.15、パシフィコ横浜 |
| 9. | Kayoko Hayashihara, Akira Shinohara and <u>Miki Shinohara</u> “DNA damage checkpoint clamp controls meiotic recombination by promoting the recruitment of pro-crossover factors ZMM/SIC”, 第34回日本分子生物学会、2011.12.15、パシフィコ横浜 |
| 10. | 寺澤匡博、篠原彰、篠原美紀、「非相同末端結合因子 Xrcc4 の S/G2 期における役割」、第34回日本分子生物学会、2011.12.15、パシフィコ横浜 |
| 11. | 篠原美紀、林原加代子、辻岳志、篠原彰、「シナプトネマ複合体形成における 9-1-1 DNA 損傷チェックポイントクランプの機能」、第29回染色体ワークショップ、2012.1.25-27、仙台秋保温泉 |
| 12. | <u>Miki Shinohara</u> and Akira Shinohara “DSB-dependent re-localization of the ZMM/SIC complex is promoted by the 9-1-1 checkpoint clamp”, EMBO workshop “Meiosis”, 2011.9.17-21, Capaccio-Paestum, Italy |
| 13. | 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 |
| 14. | 篠原美紀、「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関連公開シンポジウム、招待講演、2012.8.30-31、東工大蔵前会館 |
| 15. | 辻岳志、篠原彰、篠原美紀、「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 |
| 16. | 林原加代子、辻岳志、篠原彰、篠原美紀、「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 |
| 17. | 篠原美紀、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 |
| 18. | 篠原美紀、「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維持」、2012.9.6-8、東北大学 |
| 19. | 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) |
| 20. | 篠原美紀、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) |
| 21. | <u>Miki Shinohara</u> , “FHA domain of yeast Xrs2/Nbs1 controls Ku-dependent end joining through maintenance of Tel1/ATM activity”, The 8 th 3R International symposium, Invited speaker, 2012.11.25-28, Awaji island |
| 22. | 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 8 th 3R International symposium, Poster presentation, 2012.11.25-28, Awaji island |
| 23. | Gakushi Tsuji, Akira Shinohara, <u>Miki Shinohara</u> , “Function analysis of 9-1-1 complex in meiosis of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ”, The 8 th 3R International symposium, Poster presentation 2012.11.25-28, Awaji island |
| 24. | <u>Miki Shinohara</u> , “FHA domain of yeast Xrs2 controls NHEJ through Tel1/ATM activity”, Seminar at Friedrich Miescher Institute, 2012.10.16, Barsel, Switzerland |
| 25. | 篠原美紀、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 |
| 26. | 林原加代子、辻岳志、篠原美紀、「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 |

| | |
|--|--|
| | <p>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>27. 寺澤 匡博, 篠原 彰, 篠原 美紀, 「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>28. 東出望花, 篠原美紀, 「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Sclx4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>29. 辻岳志, 篠原彰, 篠原美紀「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>30. 寺澤匡博, 篠原彰, 篠原美紀「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>31. 篠原美紀, 林原加代子, 辻岳志, 「シナプトネマ複合体形成における9-1-1DNA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> <p>32. Hayashihara, K., G. Tsuji, A. Shinohara, M. Shinohara, 9-1-1 promotes the recruitment of ZMM/SIC through an interaction with Zip3 and regulates the formation of crossovers in budding yeast, EMBO Conference series on Meiosis, 2013.9-15-18, Dresden, Germany <国際研究会・ポスター発表></p> <p>33. 東出望花, 篠原美紀, 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 の減数第一前期における新規機能解析, 日本遺伝学会第 85 回大会, 慶應大学日吉キャンパス, 2012.9.19-21 <国内学会・口頭発表></p> <p>34. 篠原美紀, 寺澤匡博, A coordination mechanism between chromosome segregation and regulations of DSB repair pathways during mitosis, 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013.10.4, 横浜国際会議場 <国内学会・口頭発表></p> <p>35. 篠原美紀, 減数分裂期交叉型組換えホメオスタシスの分子メカニズム, 第 22 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ, 2013.11.20-22, 仙台・秋保温泉 <研究会・ポスター発表></p> <p>36. 寺澤匡博, 篠原美紀, M 期における染色体分配と DNA 二重鎖切断修復経路制御の連携機構解明, 日本放射線影響学会 56 回大会, 2013.12.5, ホテルクラウンパレス青森 <国内学会・ポスター発表></p> <p>37. 東出望花, 篠原美紀, 減数第一前期における構造特異的エンドヌクレアーゼ Slx4 の新規機能解析, 第 22 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ, 2013.11.20-22, 仙台・秋保温泉 <研究会・ポスター発表></p> <p>38. 林原加代子, 篠原美紀, 出芽酵母減数分裂進行における Zip3 の機能解析, 第 22 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ, 2013.11.20-22, 仙台・秋保温泉 <研究会・ポスター発表></p> <p>39. 辻岳志, 篠原美紀, Rad17 の減数分裂期特異的翻訳後修飾による 9-1-1 複合体の機能適応の分子機構, 第 22 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ, 2013.11.20-22, 仙台・秋保温泉 <研究会・口頭発表></p> <p>40. 寺澤匡博, 篠原美紀, M 期における染色体分配と DNA 二重鎖切断修復経路制御の連携機構解明, 第 22 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ, 2013.11.20-22, 仙台・秋保温泉 <研究会・口頭発表></p> <p>41. 篠原美紀, 岩崎大地, 寺澤匡博, DNA 末端の単鎖化と不正確な末端結合による DNA 二重鎖切断修復とその機能, 分子生物学会第 36 回年会ワークショップ「DNA 二重鎖切断の end-resection と修復機構の選択・制御」, 2013.12.5, 神戸国際会議場 <国内学会・口頭発表・WS オーガナイザー></p> <p>42. 林原加代子, 篠原彰, 篠原美紀, 出芽酵母減数分裂進行における Zip3 の機能解析, 分子生物学会第 36 回年会, 2013.12.5, 神戸国際会議場 <国内学会・ポスター発表></p> <p>43. 東出望花, 篠原彰, 篠原美紀, 減数第一前期における構造特異的エンドヌクレアーゼ Slx4 の新規機能解析, 分子生物学会第 36 回年会, 2013.12.5, 神戸国際会議場 <国内学会・ポスター発表></p> <p>44. 寺澤匡博, 篠原美紀, M 期における染色体分配と DNA 二重鎖切断修復経路制御の連携機構解明, 分子生物学会第 36 回年会, 2013.12.5, 神戸国際会議場 <国内学会・ポスター発表></p> <p>45. Shinohara, M., DNA double-strand breaks chase, Seminer in Academia Sinica, Taiwan, 2014.2.27, Taipei, Taiwan <学術セミナー・招待講演></p> <p>46. Shinohara, M., M. Terasawa, A coordination mechanism between chromosome segregation</p> |
|--|--|

| | |
|--------------------------------|---|
| | <p>and regulations of DSB repair pathways during mitosis, The 29th BRC-NIRS International Symposium, 2013.11.28-29, Kyoto <国際シンポジウム・招待講演></p> <p>47. 篠原美紀, 減数分裂期組換え制御における ATM/ATR キナーゼシグナルの機能, 蛋白研セミナー「キナーゼ・シグナリング研究の進展」, 2014.3.14-15, 大阪大学蛋白質研究所 <学術セミナー・招待講演></p> <p>一般向け 計3件</p> <p>48. 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>49. 篠原美紀, 「DNA 二重鎖切断修復とその生理的機能」, 大阪大学寄付講座「酵母リソース工学」開設式記念講演会「阪大の酵母学、微生物学と酵母リソース工学」, 2011.11.25, 大阪大学銀杏会館</p> <p>50. 篠原美紀, 「ゲノム不安定性症候群の分子病態の解明を目指して～酵母を用いてのアプローチ～」, 第32回山口大学応用分子生命科学常盤台コロキウム, 2012.2.9, 山口大学先端教育棟セミナー室</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</p> <p>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>大阪大学蛋白質研究所ゲノム染色体機能研究室 http://www.protein.osaka-u.ac.jp/genome/index.html</p> |
| <p>国民との科学</p> | <ol style="list-style-type: none"> 2011.3.20-21 女子中高生のための関西科学塾 実験講師として研究内容の説明と実験指導を行った(参加者:関西在住の女子中高生35名、保護者、教師数名) JST 女子中高生理系進路選択支援事業「女子中高生のための関西科学塾 2012」、第一回イベント、グループトーク講師、2011.9.10、大阪大学銀杏会館、中学生高校生対象、参加人数 114 名 神戸海星女子学院高等学校 高校1年、2年希望者対象(44名)、模擬授業、2011.12.1 JST 女子中高生理系進路選択支援事業「女子中高生のための関西科学塾」、第5回イベント、実験講座「光るよ見えるよタンパク質」実験指導および研究発表指導、中学生高校生対象、8名 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 |

様式21

| | |
|-----------------|---|
| 技術対話の実施状況 | <p>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 中高生50名、引率教員・保護者21名）</p> <p>6. 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、2014.3.15-16、京都大学（参加人数 中高生 70 名、引率教員・保護者 11 名）</p> <p>7. 第 45 回大阪大学公開講座 大阪<ひと・まち>未来、少子高齢化の「現在・未来」、講師、タイトル「子孫繁栄のために生物が選択した究極の手段とそのリスク」、2013.11.13、大阪大学中之島センター、（参加人数、一般 47 名）</p> |
| 新聞・一般雑誌等掲載計 1 件 | <p>1. ティーンのためのライフデザインマガジン JOL、2011 No.08、p47 研究者を目指す、女子中高生のみなさんへメッセージ</p> |
| その他 | |

7. その他特記事項