

**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23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

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。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。これらの分子機構を明らかにするために、平成23年度は前年度からの継続プロジェクトに加えて、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を明らかにすることで、減数分裂期キアズマ形成制御におけるシグナル伝達経路および制御メカニズムの解明を試みる。さらに、キアズマ形成制御すなわち DNA 二重鎖切断修復の経路選択における ATM/ATR 様キナーゼの機能について体細胞分裂期との比較によって減数分裂期特異的な機能について明らかにする。

### 2. 研究の実施状況

9-1-1 複合体のサブユニットのうち Ddc1 の C 末端テールが ZMM タンパク質の染色体上への局在に部分的に必要であることを明らかにした。また、Zip3 タンパク質の N 末端側にある Ring-finger モチーフは自身の染色体上への局在に必須であったが、C 末端部分は Zip3 自身の局在には全く必要でないものの、同じ ZMM 複合体因子 Msh4/5 の局在に必須であることを明らかにした。また、減数分裂期 DNA 二重鎖切断を人工的に減らしてやると、キアズマ(交叉型組換え)の数はホメオスタシスを示し、特に長い7番染色体では DNA 二重鎖切断を通常の10%まで減少させても組換え頻度は低下しないことを明らかにした。そのとき、ZMM 因子および組換え因子の中で唯一、Msh4/5 複合体の染色体上での核あたりのフォーカスの数が DNA 二重鎖切断の減少に比例しては減少せず、ホメオスタシスを示すことから Msh4/5 複合体が組換え中間体に局在し機能することが交叉型組換え形成およびその制御に必要であることを強く示唆している。また、交叉型組換え干渉(負の制御)に Msh4/5 タンパク質が中心的な役割を果たすとする、従来の我々のモデルを指示する結果である。Mec1 キナーゼのリン酸化ターゲットについては引き続き探索中であるが、これまでの結果を踏まえると、Msh4 あるいは Msh5 タンパク質である可能性が高い。また、Ddc1 の C 末端テールも体細胞分裂時には Mec1 によるリン酸化制御を受けることがわかっていることから Ddc1 のリン酸化のキアズマ形成における機能についても検討中である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計2件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件 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> <b>16</b>, 1081-1096. 2011 (<a href="http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2443.2011.01554.x/full">http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2443.2011.01554.x/full</a>)</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計1件 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> <b>17</b>, (in press)</p>
<p>会議発表 計14件</p>	<p>専門家向け 計12件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 寺澤匡博、松崎健一郎、<u>篠原美紀</u>、「CDK による非相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</li> <li>2. <u>篠原美紀</u>、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</li> <li>3. <u>篠原美紀</u>、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・ゲノム安定性制御ワークショップ(九州大学、2011.10.25-27、サンピア福岡)</li> <li>4. 寺澤匡博、松崎健一郎、篠原彰、<u>篠原美紀</u>、「非相同末端結合因子 Xrcc4 の S/G2 期における役割」、第21回 DNA 複製・組換え・ゲノム安定性制御ワークショップ、2011.10.25-27、サンピア福岡</li> <li>5. 林原加代子、篠原彰、<u>篠原美紀</u>、「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・ゲノム安定性制御ワークショップ、2011.10.25-27、サンピア福岡</li> <li>6. 岩崎大地、篠原彰、<u>篠原美紀</u>、「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・ゲノム安定性制御ワークショップ、2011.10.25-27、サンピア福岡</li> <li>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.</li> <li>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</li> <li>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</li> <li>10. 寺澤匡博、篠原彰、<u>篠原美紀</u>、「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</li> <li>11. <u>篠原美紀</u>、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</li> <li>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</li> </ol> <p>一般向け 計2件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>篠原美紀</u>、「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</li> <li>2. <u>篠原美紀</u>、「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</li> </ol>

様式19 別紙1

図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件  (出願中) 計0件
Webページ (URL)	大阪大学・最先端・次世代研究開発支援プログラム <a href="http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next">http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next</a>  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 <a href="http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html">http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html</a>
国民との科 学・技術対話 の実施状況	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 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 2. 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 3. 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
新聞・一般雑 誌等掲載 計1件	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
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 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	0	42,476,000	0
間接経費	30,900,000	18,157,200	0	12,742,800	0
合計	133,900,000	78,681,200	0	55,218,800	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	59,922,000	0	0	59,922,000	57,280,531	2,641,469	0
間接経費	18,157,200	0	0	18,157,200	327,055	17,830,145	0
合計	78,079,200	0	0	78,079,200	57,607,586	20,471,614	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	42,245,154	リアルタイムPCR、ライブセル光学顕微鏡、実験試薬など
旅費	1,283,660	研究成果発表旅費(分子生物学会、EMBOワークショップ)等
謝金・人件費等	13,593,901	博士研究員人件費、研究補助員人件費
その他	157,816	学会参加費、論文校閲費等
直接経費計	57,280,531	
間接経費計	327,055	
合計	57,607,586	

## 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
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	セキテクトロン 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解析 システム一式	1	3,990,000	3,990,000	2012/2/24	大阪大学