

**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 25 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。ここまで我々は、DNA 損傷応答クランプ 9-1-1 複合体がシナプトネマ複合体の染色体上の組換え部位への再局在に必須の因子であることを明らかにし、9-1-1 複合体を欠損した酵母細胞ではキアズマの染色体上での数が減少しさらにその配置もランダムになり、交叉型組換えの干渉機構が機能しなくなり、結果として異数体配偶子を多く作ることを明らかにした。さらに、9-1-1 複合体が交叉型組換え体形成に必須の ZMM 因子の一つ Zip3 と相互作用すること、また、9-1-1 複合体の構成因子である Rad17 蛋白質が減数分裂期特異的な翻訳後修飾を受け、その修飾は ATM/ATR に依存することを明らかにした。そこで、今年はこの結果を踏まえチェックポイント因子による組換えの制御の分子メカニズムを明らかにすることを目標とする。一方で、今年度は新たにヒト細胞を用いた解析により、体細胞分裂期での染色体異常に至る組換え修復の経路選択の制御メカニズムとその破綻による染色体不安定化と発がんの分子メカニズムの解明を目指す。

2. 研究の実施状況

9-1-1 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。また、一方で、Zip3 の C 末端領域は ZMM 因子のなかで直接、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。つまり、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。一方で、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。さらに、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。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tsukamoto, Y., C. Katayama, M. Shinohara, 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) 2. Sasanuma, H., Y. Furihata, M. Shinohara, 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) <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Bani Ismail, M., <u>M. Shinohara</u> and A. Shinohara*, Dot1-dependent histone H3K79 methylation promotes the formation of meiotic double-strand breaks in the absence of histone H3K4 methylation in budding yeast. <i>PLoS One</i>, accepted
<p>会議発表</p> <p>計 16 件</p>	<p>専門家向け 計 16 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 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> 2. 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> 3. 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> 4. 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, 2013.10.18-20, ホテルクラウンパレス青森 <国内学会・ポスター発表> 5. 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> 6. 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> 7. 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> 8. 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

	<p>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>9. 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>10. Shinohara, M., M. Terasawa, A coordination mechanism between chromosome segregation 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>11. 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>12. 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>13. 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>14. 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>15. 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>16. 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0件</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>研究室ホームページ http://www.protein.osaka-u.ac.jp/genome/2011/05/post-6.html</p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<ol style="list-style-type: none"> 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、2014.3.15-16、京都大学（参加人数 中高校生 70 名、引率 教員・保護者 11 名） 2. 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 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25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せん

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	81,762,000	21,238,000	0	0
間接経費	30,900,000	24,528,600	6,371,400	0	0
合計	133,900,000	106,290,600	27,609,400	0	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	258,540	21,238,000	0	21,496,540	21,496,540	0	
間接経費	15,448,515	6,371,400	0	21,819,915	21,819,915	0	
合計	15,707,055	27,609,400	0	43,316,455	43,316,455	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	6,991,604	CDiGit Blot Scanner、研究用試薬等
旅費	1,044,050	研究成果発表旅費等
謝金・人件費等	13,206,707	特任研究員人件費
その他	254,179	学会参加費、試料送付料
直接経費計	21,496,540	
間接経費計	21,819,915	
合計	43,316,455	

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
CDiGit Blot Scanner	EMエステックシステム ス	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	米国ライフテクノロジー ズ社製 AMF4300	1	1,984,500	1,984,500	2013/12/13	大阪大学
				0		