

「特別推進研究」研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する自己評価書

- 研究代表者氏名 小川 智子（岩手看護短期大学・看護学科・教授）
- 研究分担者氏名 小川 英行（岩手看護短期大学・看護学科・学長）
塚本 恭正（岩手看護短期大学・看護学科・講師）
篠原 彰（大阪大学・蛋白質研究所・教授）
篠原 美紀（大阪大学・蛋白質研究所・助手）
- 研究課題名「蛋白質の共同作業による多様な遺伝情報創出の仕組みとその制御」
- 課題番号 11101003
- 補助金交付額（直接経費のみ）

平成11年度	65,000千円
平成12年度	50,000千円
平成13年度	43,000千円
平成14年度	40,000千円
平成15年度	40,000千円

【研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する内容】

①. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか。

i) 概要

特別推進研究期間終了後の平成16年度から平成20年度まで、研究代表者は協同研究者であった小川英行と塚本恭正とともに、引き続き岩手看護短期大学で研究を進展させた。研究継続に必要な、消耗品や発表経費と研究助手（寺澤匡博）の給料は、学校法人・岩手女子奨学会からサポートを受けた。

特別推進研究補助金で得た高額の高価な機器類を駆使して、分子生物学的解析と、遺伝学的解析と、更には細胞学的解析も継続して行い、「減数分裂期組換え機構の基本のメカニズムの解明」をテーマに、下記の3つの課題を集中的に研究し、確固とした分子モデルを構築できるまでの成果を上げることができた。特に、組換え機構の解析を一分子染色体 DNA 上で行う手法を初めて開発し、一分子の染色体 DNA 上で組換えの起点とそこで起こる修復合成の長さを検出することに成功した。そしてそれらを野生株と交叉型組換え変異株で比較解析して、長い間論争の的であった、交叉型組換えと非交叉型組換えの分岐点を明確に示し、これまで提唱されてきた種々の組換え機構のモデルの中で、主流的組換えモデルの正当性に、初めて実証的な根拠を与えた意義は大きい。この5年間に得られた主要な成果は次のとおりである。

- (1) 減数分裂期組換えの DNA 二重切断に必須な Mre11-Rad50-Xrs2 複合体（MRX と記述する）は、種々な働きを持つが、それぞれの働きをコントロールする Xrs2 蛋白質の機能領域を集中的に解析し、MRX の機能制御が Xrs2 蛋白質で行われる事を示し、更に Xrs2 蛋白質の Mre11 蛋白質の活性制御の仕方を明らかにした（文献1）。
- (2) 減数分裂期組換えでは、DNA 二重鎖切断後に切断末端に短鎖 DNA が作られ、その末端が利用されて、相同染色体間で対合が起り、その後、削られた末端に相補鎖を鋳型にして、

DNA 修復合成が起こる。その修復合成の様式を解析し、組換え体が交叉型組換えであるか、非交叉型組換え（遺伝子変換型組換えとも呼ばれる）であるかを決め、それらの機構を明らかにした。（文献 2）

- (3) 減数分裂期組換えの過程で、Spo11 と MRX とが働いた後に、二重鎖 DNA の切断端の 5' 末側のみを削り込むためには、Sae2 蛋白質の機能が必須である。この削り込み反応の時に Sae2 蛋白質が MRX 複合体とどのように協同して削り込みの反応を起こすかを Sae2 変異株を用いて解析した。Sae2 のそれぞれのリン酸化部位のリン酸化のされかたの違いで、3 つの反応に関与していた。（文献 3）

ii) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など

論文発表

1. Tsukamoto, Y., C. Mitsuoka, M. Terasawa, H. Ogawa, and T. Ogawa: Xrs2p regulates Mre11p translocation to the nucleus and plays a role in telomere elongation and meiotic recombination. *Mol. Biol. Cell*, **16**: 597-608 (2005). 引用 : 15 件
2. Terasawa, M., H. Ogawa, Y. Tsukamoto, M. Shinohara, K. Shirahige, N. Kleckner, and T. Ogawa: Meiotic recombination-related DNA synthesis and its implications for crossover and non-crossover recombinant formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**: 5965-5970 (2007). 引用 : 10 件
3. Terasawa, M., T. Ogawa, Y. Tsukamoto, and H. Ogawa: Sae2p phosphorylation is crucial for cooperation with Mre11p for resection of DNA double-strand break ends during meiotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Genet Syst*, **83**: 209-217 (2008) 引用件数 : 不明
4. Johzuka, K., M. Terasawa, H. Ogawa, T. Ogawa and T. Horiuchi: Condesin loaded onto the replication fork barrier site in the rRNA gene repeats during S phase in a FOB1-dependent fashion to prevent contraction of a long repetitive array in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.*, **26**: 2226-2236 (2006). 引用 : 15 件

国際学会に置ける招待講演と発表

1. 2003 年分子生物学会、招待講演（神戸）
Masahiro Terasawa, Hideyuki Ogawa, Tomoko Ogawa (Iwate College of Nursing)
Analysis of DNA repair syntheses in meiotic recombination
2. 2005 年 FASEB Colorado, USA
Masahiro Terasawa, Hideyuki Ogawa and Tomoko Ogawa (Iwate College of Nursing)
DNA repair synthesis involved in meiotic recombination: Molecular Analysis of Two kinds of Recombinant Formation: Examination of Tracts of Repair Synthesis Involved in Meiotic Recombination
3. 2007 年 EMBO “Meiosis” Meeting. Kanagawa

Masahiro Terasawa, Tomoko Ogawa, Yasumasa Tsukamoto and Hideyuki Ogawa,
(Iwate College of Nursing)

Sae2 protein required for both initiation and progression of resection at the ends of double-strand breaks in meiotic recombination of *S. cerevisiae*

4. 2002 年 日本分子生物学会 シンポジウム (横浜)
寺澤匡博、小川英行、小川智子 (岩手看護短期大学) : Analysis of DNA repair synthesis involved in meiotic recombination
5. 2004 年 組換えワークショップ 12 月 淡路島
塚本恭正, 三岡周子, 寺澤匡博, 小川英行, 小川智子 (岩手看護短期大学) : Mre11 多機能蛋白質複合体における Xrs2 の役割— Mre11 蛋白質の核移行と他の必須機能
6. 2004 年 日本分子生物学会 (神戸)
Masahiro Terasawa, Hideyuki Ogawa, Tomoko Ogawa (Iwate College of Nursing)
減数分裂期組換えに関与する DNA 修復合成
7. 2005 年 日本分子生物学会 (福岡)
Masahiro Terasawa, Hideyuki Ogawa, Tomoko Ogawa (Iwate College of Nursing)
Analysis of tracts of meiotic recombination-related DNA synthesis.
8. 2006 年 日本分子生物学会 (京都)
Masahiro Terasawa, Hideyuki Ogawa, Yasumasa Tsukamoto and Tomoko Ogawa
(Iwate College of Nursing) : Function of Mer3 involved in crossover and noncrossover recombinant formation.

iii) 研究費の取得状況 (研究代表者として取得しているもののみ)

なし

iv) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

新たな発見と知見

研究は総て特別推進研究期間中 (特に岩手看護短期大学へ移動後の平成 13 年から) に開始し、研究期間終了後も継続して行って、得られた主要な研究成果は次の三点である。(I) 減数分裂期組換えに伴って起こる DNA 合成部位 (MRDS : Meiotic Recombination related DNA Synthesis) を一分子の染色体 DNA 上に決定し、その分布の解析から交叉型組換えと非交叉型組換えの区別に成功した。(II) 二重鎖切断後、相同性検索に用いられる単鎖 DNA 作成で働く Sae2 蛋白質の機能を明らかにした。(III) MRX 複合体の機能を制御する Xrs2 蛋白質の機能を明らかにした。以下にこれらの研究から生み出された新たなシステム、発見、知見を既述する。

I. MRDS :

酵母に外来遺伝子を導入して、培地に加えたチミジン誘導体をDNAに効率よく取込むことができる株を作成した。DNAに取込まれたチミジン誘導体は、その誘導体に特異的に反応する蛍光標識した抗体を用いて、それらをfocusとして顕微鏡下で観察することができた。この系を用いて減数分裂期組換えに伴って起こるDNA合成 (MRDS) を酵母で初めて検出し、そのMRDSを用いた解析から以下のことを明らかにした。

1. 減数分裂期組換え欠損変異株 (*spo11Δ*) と野生型株を対比して、減数分裂期に導入後、3時間以降にチミジン誘導体を培地に添加すると、標識する塩基を変えて検出したDNA複製とは区別して、MRDS を特異的に標識できることを証明した。
2. MRDSが行われる時期は、組換えに関与する蛋白質 Rad51 の解離の直後で、シナプトネマ複合体形成の直前から形成時までであった。
3. MRDS の行われる場所は、DNA combing 法に FISH を組合わせた方法で染色体 DNA 上に検出し、以下のことが明らかになった。
 - (1) DNA 二重鎖切断の起こる組換えのホットスポット領域に集中していること、
 - (2) DNA 二重鎖切断のどちら側かに存在するか、または切断部位をまたいで存在するものもあることを明らかにした。
 - (3) 野生株ではホットスポットのどちらか片側に存在するものが多い。交叉型組換え欠損株 (*mer3Δ*) では、切断部位をまたいで存在するものが多いことが明らかになった。それぞれは、交叉型組換え、非交叉型組換えに由来する MRDS と説明できることから、これらの MRDS の存在様式は、現在主流となっている組換えモデルの直接的な証拠となった。

野生株のMRDSの長さは、1-2 kb のものが大部分であり長いものは3 kbにもなる。また交叉型組換え欠損株 (*mer3Δ*) では大部分が 0.4~0.8 kbとMRDSの長さが短いことがわかり、MRDSの長さで組換えの種類を論じることができた。(1)、(2)までを研究期間内に解析をしていたが、研究期間終了後も引き続き研究を継続し、(3)を加え、2007年、PNAS に公表した(文献2)。

このMRDSの研究は、最初、植物ユリの減数分裂期の細胞でsemi-in-vivoの系を確立して行ったが、ユリでは遺伝的解析が出来なかった。解析は染色体構造の解析と組換えに関与する限られた蛋白質の局在に留まったため、MRDSが組換えに関与するものであるという確実な証拠が得られなかった。そのために、遺伝的解析ができる出芽酵母を用いて、同様な検出系を立ち上げることにしたが、出芽酵母では、DNA合成そのものの検出が出来ていなかったため、その系の作成から行なった。従ってこの系の確立は、酵母のDNA複製過程の研究にも大きく貢献するものである。また、減数分裂期の組換えが起こっている現象を染色体DNA一分子上で可視化し、解析できるようにしたことは、実験技術面だけを考えても、今後、DNA複製を含めたこの分野の他の研究に大きな刺激を与え、貢献するものと考えられる。ユリの結果については寺澤匡博の博士学位論文(英文、大阪大学)に記載されている。

II. Sae2 の機能解析

出芽酵母 *SAE2* 遺伝子进行操作して、その遺伝子で作る Sae2 タンパク質の Mec1/Tel1 推定リン酸化部位に置換変異をもつ株を作製し、そのリン酸化部位の Sae2 の DSB 切断の削り込み反応に対する役割を調べた。C 末側のリン酸化部位 3 カ所が DSB 末端の削り込み反応に必須な領域であり、N 末側 2 カ所のリン酸化部位が削り込み反応の効率を上昇させるために必要であることを示した。また、5 カ所全部が、MRX 複合体を染色体上に結合するために必要であった。研究期間内に変異株の作製を終了、その後引き続き解析を行い、2008 年に GGS に公表した（文献 3）。

III. Xrs2 機能の解析

MRX 複合体の機能を制御している蛋白質として Xrs2 に注目し、蛋白質の機能解析のために、*XRS2* 遺伝子の N 末端と C 末端からの種々の欠失変異株を単離して、その機能解析を行なった。その結果、次の重要な 3 点が明らかになった。

(1). Xrs2 蛋白質の中央に位置する 23 アミノ酸残基からなる領域が Mre11 蛋白質の核移行を行う機能を持つ。この事実は 23 アミノ酸残基を Mre11 蛋白質に結合した蛋白質が Xrs2 欠損状態でも核移行する事で証明した。

(2). Xrs2 のこの 23 残基の N 末端側は、減数分裂期組換えで、MRX 複合体が二重鎖切断を入れるために必須な領域で、どこを欠失しても DNA に二重鎖 DNA の切断は生じなかった。

(3). 23 残基の下流領域は、テロメアの伸長に必須である領域であることが判った。以上の結果は、2005 年に *Mol. Biol. Cell.* に発表した（文献 1）。

②. 特別推進研究の研究成果が他の研究者による活用された状況はどうか。

i) 学界への貢献の状況

①に掲載した文献 2 と 3 の研究は発表してから 1 年、あるいは、7 ヶ月と日が浅く、これらの解析がどのように国際学界へ貢献しているかはまだ不確かであるが、出芽酵母での DNA 合成の検出系の問い合わせや、株の分与の申し込みが来ている。また、学会での発表後 DNA Combing 法と Fish の組み合わせの実験系について習いにも来ており、その結果の一つは 2006 年に *Mol. Cell. Biol.* (文献 4) に発表されている。

文献 1 については、Xrs2 がヒト Nbs1 のホモログであることから、ヒト細胞での DNA 修復や染色体安定維持機構の解析など広い分野での研究基礎となっている。それは多くの関係 Review に引用されている事から判る。本研究を進展させた機能領域の解析から、染色体異常を引き起こす DNA 修復機構（非相同組換え）を阻害する機能が新たに見つかった（共同研究者篠原美紀と篠原彰による）。DNA の傷を感知するセンサーや細胞周期チェックポイントを働かせるメディエーターにも及ぶことが分かってきた。

さらには、Nbs1の変異は白血病や悪性リンパ腫などのがんを若年で発症するリスクが高くなることが知られていたが、それはNbs1がDNAに生じた傷の修復のための細胞周期チェックポイントの制御、DNA二本鎖切断修復、染色体末端の維持などを通して染色体の安定維持に重要な役割を果たしているためであることが示されて来ている。本研究は酵母を用いた基礎研究であり、医療に直接結びつくものではないが、本研究で得られた知見はヒトの疾患の発生のメカニズムを解明するうえで大きく貢献している。なお、本補助金の共同研究者の論文内容、引用件数は下記ii)にまとめて記載した。

遺伝的組換え機構は、種の多様性をもたらすと同時に、変化をしてはいけない遺伝子を安定に維持保存するためにも必要である。前者は、子が親に似ているが、全く同じ(クローン)でないことに象徴される様に、減数分裂期組換え機構がその代表である。一方、後者は体細胞期で起こる場合が殆どで、DNA複製期とDNAに生じた傷の修復に関するものである。

生物の組換えを行う機能の基本的な蛋白質は生物全般に共通である。体細胞で起こる種々の組換え反応を厳密に制御して、必要な時に機能を働かせるものを明確にするためには、先ず減数分裂期組換え機構を明らかにする事が必要である。そうすることによって、体細胞で起こる組換え機構の制御の仕組みが判り、しいては重篤な病気の解明にも繋がって行くと考ええる。

ii) 論文引用状況 調査日 2009年1月20日

研究期間中に発表された論文(1999~2003)の中で主要なもの10報

1. Morrison, C., A. Shinohara, E. Sonoda, Y. Yamaguchi-iwai, M. Takata, R. R. Weichselbaum, and S. Takeda: The essential functions of human Rad51 are independent of ATP hydrolysis. *Mol. Cell. Biol.*, **19:6891-6897(1999)**. 「ヒトのRad51タンパク質のATP結合部位の変異を作成した。その変異株はATPを分解できないが、細胞増殖には影響せず放射線傷害の修復も可能であった。ATPase活性はこの二つの機能に直接関係しない。」 52件。

2. Shinohara, M.; S. L. Gasior, D. K. Bishop, and A. Shinohara: Tid1/Rdh54 promotes colocalization of rad51 and dmc1 during meiotic recombination., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97:10814-10819 (2000)**. 「大腸菌RecAタンパクのホモログである、酵母のRad51とDmc1は減数分裂期の染色体に共局在するが、その共局在には、Tid1/Rdh54が必要であることを示した。」 68件。

3. Takao, N., R. Mori, H. Kato, A. Shinohara, and K. Yamamoto: c-Abl tyrosine kinase is not essential of ataxia telangiectasia mutated functions in chromosomal maintenance. *J. Biol. Chem.*, **275:725-728 (2000)**. 「c-Ablの活性化にはATMの機能が必要であるが、ATMの機能にはc-Ablの機能が関与しないことを示した」 34件。

4. Tashiro, S., J. Walter, A. Shinohara, N. Kamada, and T. Cremer: Rad51 accumulation at sites of DNA damage and in postreplicative chromatin. *J. Cell Biol.*, **150:283-291 (2000)**. 「核内を部分照射することによって、照射されていない場所にfociを形成していたRad51が、照射した場所に集ま

ってくることに、Rad51は、複製中のクロマチンよりは複製後のクロマチン上に多く局在することを示した。」 118件。

5. Tsubouchi, H., and H. Ogawa: Exo1 roles for repair of DNA double-strand breaks and meiotic crossing over in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell*, **11**:2221-2233 (2000). 「Exo1が減数分裂期組換え開始の二重鎖切断後、切断端に一本鎖を形成する段階に関与し、しかも交差型組換え体の形成に重要な役割を持っていることを明らかにした。」 99件。

6. Hong, E. L., A. Shinohara, and D. K. Bishop: *Saccharomyces cerevisiae* Dmc1 protein promotes renaturation of single-strand DNA (ssDNA) and assimilation of ssDNA into homologous super-coiled duplex DNA. *J. Biol. Chem.*, **276**:41906-41912 (2001). 「酵母のRecAホモログであるDmc1は、RecA同様に、相補的な一本鎖DNA同士をアニールする活性とスーパーコイルDNAに、そのDNAと相補的な塩基配列を持つ一本鎖DNA断片を取込ませる活性を持つことが分かった。」 61件。

7. Tsukamoto, Y., A. K. Taggart, and V. A. Zakian: The role of the Mre11-Rad50-Xrs2 complex in telomerase-mediated lengthening of *Saccharomyces cerevisiae* telomeres. *Curr. Biol.*, **11**: 1328-1335 (2001). 「酵母のMre11-Rad50-Xrs2複合体は、テロメアでテロメラーゼが活性を持つようになる為に必要であることを明らかにした。」 94件。

8. Usui, T., H. Ogawa, and J. H. Petrini: A DNA damage response pathway controlled by Tel1 and the Mre11 complex. *Mol. Cell*, **7**:1255-1266 (2001). 「ATMのホモログであるTel1とMre11複合体が支配するDNA傷害のチェックポイント経路を明らかにした。」 169件。

9. Yu, X., S. A. Jacobs, S. C. West, T. Ogawa, and E. H. Egelman: Domain structure and dynamics in the helical filaments formed by RecA and Rad51 on DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**:8419-8424 (2001). 「RecAはC-末に、Rad51はN-末に、それぞれのタンパクはホモログでありながら、ユニークなドメインを持っている。これらは、それぞれのタンパクがDNAに結合して形成するヌクレオフィラメント中で同じ機能を持つように進化したものであることを主張した。」 93件。

10. Shinohara, M., K. Sakai, A. Shinohara, and D. K. Bishop: Crossover interference in *Saccharomyces cerevisiae* required a TID1/RDH54- and DMC1-dependent pathway. *Genetics*, **163**:1273-1286 (2003). 「交差型組換えの干渉には、TID1/RDH54とDMC1が関与する組換え経路が関与していることを明らかにした。」 33件

研究期間終了後5年間に発表された論文(2004~2008)の中で主要なもの10報

11. Tsukamoto, Y., C. Mitsuoka, M. Terasawa, H. Ogawa, and T. Ogawa: Xrs2p regulates Mre11p translocation to the nucleus and plays a role in telomere elongation and meiotic recombination. *Mol. Biol. Cell*, **16**, 597-608 (2005). 「Mre11-Rad50-Xrs2複合体のXrs2は、Mre11の核内への移行に関与し、テロメアの伸長と減数分裂期組換えに必要なことを明らかにした。」 15件。

12. Terasawa, M., H. Ogawa, Y. Tsukamoto, M. Shinohara, K. Shirahige, N. Kleckner, and T. Ogawa: Meiotic recombination-related DNA synthesis and its implications for crossover and non-crossover recombinant formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**: 5965-5970 (2007). 「酵母に外来遺伝子を導入して、培地に加えたチミジン誘導体を DNA に効率よく取込むことのできる株を作成し、減数分裂期組換えに伴って起こる DNA 合成を初めて検出し、その存在様式の違いにより交叉型、非交叉型組換えを区別することに成功した。」 10 件。

13. Johzuka, K., M. Terasawa, H. Ogawa, T. Ogawa and T. Horiuchi: Condesin loaded onto the replication fork barrier site in the rRNA gene repeats during S phase in a FOB1-dependent fashion to prevent contraction of a long repetitive array in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 2226-2236, (2006). 「酵母の rDNA 遺伝子の重複配列中にある DNA 複製フォークの停止サイトにコンデシンが位置して、FOB1 に依存して、S 期にこの長い重複領域が短縮するのを防いでいることを明らかにした。」 15 件。

14. Conrad, M., C-Y. Lee, G. Chao, M. Shinohara, H. Kosaka, A. Shinohara, J. A. Conchello, and M. E. Dresser: Rapid telomere movement in meiotic prophase is promoted by NDJ1, MPS3 and CSM4 and is modulated by recombination, *Cell*, **133**, 1175-87 (2008) 「第1減数分裂前期での活発なテロメアの動きに NDJ1, MPS3 と CSM4 が関与していることを明らかにした。」 5 件。

15. Jeccica, P. L., S. Oh, M. Shinohara, A. Shinohara, and N. Hunter: Rad52 promotes postinvasion steps of meiotic double-strand-break repair, *Mol. Cell*, **29**: 517-524 (2008) 「Rad52 が二重鎖切断の修復の際に、一本鎖の相手鎖への侵入を Rad51 とは独立に行う活性の有ることを明らかにした。」 7 件。

16. Shinohara, M., S. D. Oh, N. Hunter, and A. Shinohara: Crossover assurance and crossover interference are distinctly regulated by the ZMM/SIC proteins during meiosis, *Nature Genet.*, **40**: 299-309 (2008). 「交差型組換えを行うことと交差型組換え干渉を引き起こすことは、ZMM/SIC タンパクによってコントロールされていることが明らかになった。」 6 件。

17. Shima, H., M. Suzuki, and M. Shinohara: Isolation and characterization of novel xrs2 mutations in *Saccharomyces cerevisiae*, *Genetics*, **170**: 71-85 (2005). 「DNA 修復とチェックポイントの初期過程に働く Xrs2/Nbs1 蛋白の機能領域を明らかにした。」 16 件。

18. Hayase, A., M. Takagi, T. Miyazaki, H. Oshiumi, M. Shinohara, and A. Shinohara: The protein complex containing Mei5 and Sae3 promotes the assembly of and cooperates with a meiosis-specific RecA homolog Dmc1 during meiotic recombination, *Cell*, **119**: 927-940 (2004). 「減数分裂期の組換えに関わる、減数分裂期特異的 RecA ホモログ Dmc1 と共同で働く新規複合体 Mei5-Dmc1 を同定した。」 30 件。

19. Yamashita K., M. Shinohara, and A. Shinoara: Rad6-Bre1-mediated histone H2B ubiquitylation modulates the formation of double-strand breaks during meiosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**: 11380-11385 (2004). 「減数分裂期組換えの開始反応がヒストンの修飾により制御を受ける。」 27件。

20. Miyazaki, T., D. A. Bressan, M. Shinohara, J. E. Heber, and A. Shinohara: In vivo assembly and disassembly of Rad51 and Rad52 complexes during double strand break repair, *The EMBO J.*, **23**: 950-958 (2004). 「体細胞分裂期の組換え過程に関わる蛋白質複合体、特に Rad51, Rad52 の集合、解離反応を細胞内で解析する系を構築し、新しい組換えのモデルを提唱した。」 48件。

③. その他、効果・効用等の評価に関する情報。

i) 研究成果の社会への還元状況

研究代表者の研究としては②で述べた以外に、特別なことはない。

ii) 研究計画に関与した若手研究者の成長状況

協同研究者として、篠原彰博士と、篠原美紀博士が加わった。また、研究員として寺澤匡博さんが加わった。寺澤さんは、私と行った大学院修士の研究 (Genes & Dev., 1995) を含めた三報の筆頭著者としての論文を持って、大阪大学大学院理学研究科で博士の学位を取得した。現在、理化学研究所の発生生物学研究センターで博士研究員として働いている。彼の新しい系の確立能力が評価されて、現在線虫を用いた神経細胞の研究を開始している。塚本恭正博士は岩手看護短期大学(准教授)で基礎科学を講義と実習でもって看護学生に徹底的に教え、岩手の医療職者に最近の医療の発展を理解させることに大きく貢献している。平成20年4月末で、私は研究室を閉めました。本補助金で得られた貴重な機器類は、他大学の若い研究者に提供し活用されているもののほか、本学の学生実習で使用されているものがあり、全て有効に使用されている。

また、篠原彰博士は当時、大阪大学大学院の准教授であったが、今は同大学院の教授として研究室を持ち活発に組換え研究に取り組んでいる。同じく、篠原美紀博士は当時の広島大学原爆放射能医学研究所の助手であったが、現在は大阪大学大学院の准教授で同じく組換え機構の研究で活躍している。

また、特別推進研究期間中に小川英行と協同研究をしていた、坪内英夫博士(文献5)は現在、英国の Marie Curie Research Institute で組換え研究のグループリーダーとして研究室を主宰し活躍している。また、臼井雄彦博士はスロンケタリング研究所で、引き続き組換えと DNA 傷害修復のチェックポイントの研究を行なって(文献9)、平成20年9月から大阪大学大学院の助教となり日本での研究活動を開始した。

篠原彰博士と篠原美紀博士の研究機関修了後の成果の概要

- (1) 減数分裂期の組換えに DNA 損傷チェックポイント因子が関わる。
- (2) テロメアの伸長に関わる組換えに RecA ホモログ Rad51 に依存しない径路があり、その径路では Rad52 が重要な働きをする。
- (3) 減数分裂期の組換えに関わる、減数分裂期特異的 RecA ホモログ Dmc1 と共同で働く新規複合体 Mei5-Dmc1 を同定した。
- (4) 減数分裂期組換えの開始反応がヒストンの修飾により制御を受ける。
- (5) 体細胞分裂期の組換え過程に関わる蛋白質複合体、特に Rad51, Rad52 の集合、解離反応を細胞内で解析する系を構築し、新しい組換えのモデルを提唱した。

項目 1、3、4 の研究は減数分裂期の組換えの分子レベルの解明である。減数分裂期の組換えは精子、卵子といった配偶子の染色体の数を保証するため（第 1 分裂における相同染色体の分配に必要であるため）に必須の役割を果たしている。このような研究は、将来、異数体形成により誘発される流産、ダウン症に代表される異数体病の原因の理解に繋がることが期待出来る。

項目 2、4 の研究は、体細胞分裂期の組換えを分子レベルで理解する研究である。体細胞分裂期の組換えは DNA 修復を介してゲノムの安定化に寄与している。ゲノムの不安定化は、染色体異常の蓄積に繋がり、癌の原因となる。特に組換えに中心的な役割を果たす Rad51 は家族性乳がん関連因子の 1 つ Brca2 と一緒に組換えに関わることが知られている。体細胞分裂期の組換えの理解は、癌の発生の原因となるゲノムの不安定化要素を把握することの助けになるかもしれない。

XRS2 はヒト NBS1 の相同遺伝子であり、その欠損はナイミーヘン症候群と言う高発ガンを臨床症状とする遺伝病を引き起こす。その分子病態は不明であったが、本研究により非相同末端結合の欠損によりこの病気が発症することが示唆された。ナイミーヘン症候群の診断、治療に役立つ研究成果と言える。