

令和 3 年 11 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H05713

研究課題名(和文) 組織幹細胞におけるゲノム安定性の制御

研究課題名(英文) Mechanism of genome integrity maintenance in tissue stem cell

研究代表者

藤堂 剛 (TODO, Takesshi)

大阪大学・放射線科学基盤機構附属ラジオアイソトープ総合センター・招へい教授

研究者番号：90163948

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 153,800,000円

研究成果の概要(和文)：損傷応答機構は、多様なDNA損傷に対抗する生体防御機構であり、ゲノム安定性維持に本質的な役割を果たしている。損傷応答機構の一つである特殊なDNA複製酵素が欠損したメダカ変異体が、年齢依存的に全個体で大腸がんを発症することを見出した。本発がんは、発症初期において大腸基底膜に幹細胞の増殖が見られる特徴を示す。更に、がん細胞のゲノム解析を行うことにより、染色体レベルでの変異が頻度高く生じていることを見出した。発がんメカニズム解明研究にとり、優れた且つユニークな発がんモデル系であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸がんは、我が国に限らず世界において最も罹患率が高く、しかも肺がんにつき2番目に死亡率の高いがん疾患である。本研究では、100%の個体で、しかも特定の生育時期に大腸がんを発症するモデル動物をメダカにおいて樹立できた。更に、その分子基盤の大枠を解明することに成功した。大腸がん発症メカニズム解明の貴重なモデル系の開発であり、今後、生物学・基礎医学に限らず、臨床研究においても大きな貢献が期待できる。学術的にも社会的にも、本研究の意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Damage Response is a biological defense mechanism that counters various DNA damages and play an essential role in maintaining genome stability. We found that medaka mutants lacking a special DNA polymerase, which is one of the damage response mechanisms, develop intestinal tumor in all individuals in an age-dependent manner. This medaka tumorigenesis is characterized by the proliferation of stem cells in the basement membrane of the intestine in the early stage of onset. Furthermore, by performing genome analysis of the tumor cells, we found that mutations at the chromosomal level occur frequently.

研究分野：分子遺伝学、ゲノム生物学、環境影響学、放射線生物学

キーワード：ゲノム不安定性 ゲノム構造変異 発がん DNA複製酵素

1. 研究開始当初の背景

本研究提案にあたり、以下の2つを基本課題とした；(1) 新たな損傷応答解析系の開発、(2) 導入ゲノム変異タイプの制御。この2点に注目した背景を以下に述べる。

(1) 新たな損傷応答解析系の開発：我々のゲノムは、「環境からの外的要因」や「細胞内で必然的に生じる内的要因」による多様なストレスの脅威に常に晒されている。生物は、これら外的・内的ストレスに対応する精巧な「防御システム」を備えており、ストレスに起因するゲノム損傷を最小限に抑えている。しかしながら、防御機構をすり抜けたゲノム損傷はゲノム変異を誘発し、その蓄積により最終的に発がんが誘発される。「ゲノム防衛システム」については、長年に渡り多くの研究がなされ、その詳細が明らかにされてきている。しかしながら、その多くは、何らかの生体反応を指標とした細胞レベルでの解析系であり、「ゲノム変異」あるいは「発がん」を最終指標とした解析は少ない。その為、多様な経路の詳細が明らかにされているにも関わらず、その最終生物影響への寄与は多くの場合「多様な経路の redundancy」として解釈され、「ゲノム防衛システム」の「ゲノム変異」「発がん」への寄与は、不明な点が多く残されている。そこで本提案では、「発がん」をエンドポイントにしたモデル系の樹立を1つの目標とした。

(2) 導入ゲノム変異タイプの制御：次世代シーケンサー(NGS)の普及は、がん細胞のゲノム変異実体の理解を飛躍的に進めた。単純な塩基変異による点突然変異等のヌクレオチドレベルでの小さな変異(Nucleotide Level Alteration: NLA)から、逆位・欠失・染色体転座等の大きな染色体レベルでの構造異常(Structure Variant: SV)まで、多様なゲノム変異ががん細胞に蓄積していることが明らかになってきた。しかしながら、がん細胞が由来する組織により、両タイプ変異の頻度に明らかな偏りがあることが示されてはいるものの、各々の発がんへの寄与の違いについては不明な点が多く残されている。そこで、本申請研究では、2つの変異タイプの「発がん」への寄与の違いを明らかにする目的で、後者(SV)を特異的に導入できるモデル系の樹立をもう一つの目標とした。

また、発がんには組織幹細胞への変異導入が重要である事は、長い潜伏期間など多くの証拠により示されている。上に挙げた2点に注目したシンプルな発がんモデル系及びゲノム解析系の確立により、組織幹細胞でのゲノム変異の実体がより明確に検証できると考えられた。

2. 研究の目的

(1) 損傷応答機構に関与する遺伝子への変異導入により高発がんモデル系の樹立、および(2) がん細胞ゲノムの解析、が本研究の基本目的である。本目的遂行には、遺伝学及び分子遺伝学手法をフルに活かした系が必須である。そこで、本研究では多数個体を対象とする事が可能で、しかも受精卵への遺伝子導入が容易な小型魚を実験モデル生物として選んだ。更にゲノム解析での利便性を考慮し、小さなゲノムサイズを持つメダカを対象とすることとした。一方、変異導入対象遺伝子として、損傷乗り越え合成(Trans-Lesion Synthesis: TLS) DNAポリメラーゼを標的とすることとした。通常のDNA複製酵素は、DNA損傷など何らかの修飾が生じている部位でDNA合成が停止してしまう。複製フォーク停止の放置は、二重差切断(DSB)導入を介し、染色体レベルでの大きな変異を誘発する。TLSポリメラーゼは、停止したDNA複製酵素に置き換わって、これら複製阻害を回避する機能を持っている。つまり、ゲノム複製停止により誘発される「ゲノム構造変異(SV)」を回避する役割を担っている。従って、この機能が欠損すればSVの誘発頻度が大きく増加することが予想され、最終的に発がん頻度の増加が想定される。点突然変異等の小さな変異(NLA)を増加させる「ミスマッチ修復欠損」が、発がんに強くリンクしている事はよく知られている。本研究で対象とする TLS ポリメラーゼ欠損では、大きな変異(SV)の誘発が想定され、ミスマッチ修復欠損を相補する興味深い「発がんモデル系」となる事が期待される。

3. 研究の方法

(1) 変異体作製：メダカ変異体作成には、TILLING法及びゲノム編集技術(CRISPR及びTALEN)を用いた。TILLING法は我々の研究室で確立していた手法であるが、化学変異原による random mutagenesis を基本としており、1塩基置換変異体作製に適している。ゲノム編集技術としては、CRISPR、TALENの両手法を用いた。rev1変異体は前者の方法で、rev3は後者の方法で作製した。

(2) 変異解析系：全ゲノムあるいはCh.19について、NGSにより塩基配列決定を行った。後者については、AgilentのSureSelect Target Enrichment法で、メダカゲノムで最も小さな染色体であるCh.19を選択的に濃縮し、より深く読むことにより塩基変異の正確な検出を行なった。塩基レベル変異(点突然変異)解析には、精度高い変異解析のソフトウェアEAGLEを開発した(添付論文2)。EAGLEの詳細は、研究結果で説明を加える。一方、Inversion, Deletion, Translocationなどの構造変異(SV)検出には、既存の2種の手法(Delly, Lampy)を用い、両手法で共通に検出できた場所をSanger Sequencingにより確認し、SV変異を塩基配列レベルで決定した。

4. 研究成果

ヒトを含めた多くの哺乳動物は8種類の TLS ポリメラーゼ遺伝子を持っている。それらは全て DNA 合成活性を持つものの、それぞれ異なる機能的特徴や基質特異性を示す。これらの中で Rev1, Rev3 は TLS 課程に必須の機能を担っており、この2つの遺伝子に焦点を当て、変異体を作製し、発がんの観察を行なった。研究成果の中で特筆すべきは、(1) *rev3* 変異体において、「年齢依存的」に「100%の個体で大腸がんを発症」といった興味深い表現系を発見し、ヒト大腸がんの絶好の動物モデルの樹立に成功した事、更に、このがん細胞が染色体レベルでの構造異常を高頻度起こすユニークな特徴を示す事の同定、2) *rev1* 変異体では自然発がんは観られないが、化学変異原により肝臓がんが高頻度に誘発され、しかもこの変異体では変異原処理により、発がんに重要な役割を果たす「ヘテロ接合性喪失(Loss of Heterozygosity:LOH)が頻度高く生じる事、の発見である。LOHは多くの「がん」で共通に見られるゲノム変異であり、その発生メカニズム解明の有力なモデル系の開発となった。各々について研究の経緯を含め以下にまとめる。

(1) *rev3* 変異体 :

TLS 反応には、塩基修飾部位に非特異的塩基を挿入するインサーター活性と、インサーターによる塩基挿入の結果生成される異常なプライマー末端においても DNA 伸長合成を行えるエクステンダー活性の2つの機能が必須である。Rev3 は後者の活性をもつ唯一の TLS ポリメラーゼであり、TLS 反応に Essential な酵素である。

① *rev3* ヌル変異体作製 : Rev3 は、300kDa の巨大タンパク質であり、DNA 合成活性中心は C 末に存在しているが、それ以外の N 末側にも未知の機能の存在が予想されている。そこで、全活性領域を欠損する「N 末変異体」と「活性中心 C 末欠損変異体」の2種を作製した。マウスの *rev3* ヌル変異体は胚性致死となるが、興味深いことに、いずれのメダカ変異体も生魚まで生育可能であった。更に、他生物の *rev3* 変異体との表現型を比較するため、*rev3* の両メダカ変異体から培養細胞株を樹立し、その表現型を確認した。メダカ *rev3* 変異細胞は、酵母やマウス胚由来細胞同様、紫外線、放射線に高感受性であり、しかも紫外線誘発点突然変異 (NLA) が減少している事が確認できた。以上の表現型は、BAC クローンを利用した野生型遺伝子の再導入により相補された。以上から、本変異体が他生物で同定されている *rev3* 遺伝子の真のオーソログ遺伝子の変異体であることが確認できた。

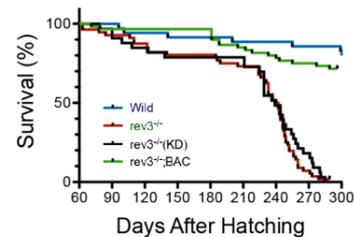


図1. *rev3*メダカの寿命 (Kaplan-Meier プロット)

② 年齢依存的かつ100%個体での大腸がん誘発 : 本変異体を終生飼育したところ、野生株に比べ極端に寿命が短いことが分かった (図1)。孵化後8ヶ月目から死亡率が急激に上昇し、9ヶ月までに全個体が死亡した。そこで、孵化後8.5ヶ月個体の全身病理切片を作製し、体組織の観察を行なった。野生株では全ての体組織で異常が見られないが、*rev3* 変異体では全個体で大腸がんが発症している事が確認された (図2)。更に興味深いことに、このがん細胞は、ほとんどの個体で腹腔内に播種しており、多くの場合、脾臓、肝臓、腎臓に転移していた (図3)。しかも、原発巣、播種・転移がん細胞は幹細胞・癌幹細胞マーカーである Musashi (Msi1) を高発現していた (図3)。次に、異常増殖像がどの生育時期に現れてくるかを検討する為、5.5-7.5ヶ月の個体の病理組織像を確認したところ、6.5ヶ月目付近から腸の基底膜付近の幹細胞で過増殖の兆候が見られはじめ、7ヶ月目では既に基底膜を中心に過増殖が初期発症部位全体に及んでいることが確認できた (図4)。尚、以上の表現型は、BAC クローンを利用した野生型遺伝子の再導入 Transgenic (TG) 個体において相補される事を確認している。発症時期が全個体で厳密シンクロナイズし、最終的に全個体での発症に至る本 *rev3* 変異体は、これまでに報告のない優れた発がんモデル系であると結論づけられる。

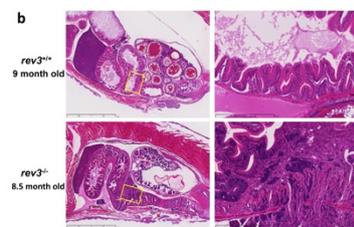


図2. *rev3*メダカでのIntestinal tumor発症 野生型 (上段)、*rev3* 変異体 (下段)

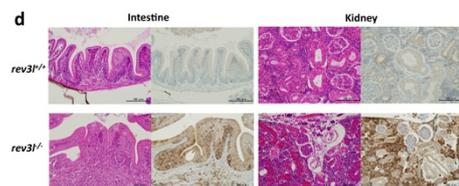


図3. Intestinal tumorの腎臓への浸潤とαMsi1抗体染色 野生型 (上段)、*rev3* 変異体 (下段)

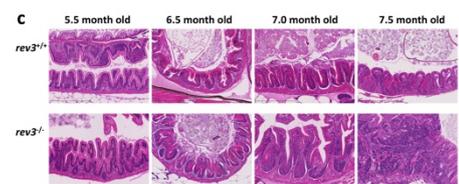


図4. Intestinal tumor発症: 生育時間経過 野生型 (上段)、*rev3* 変異体 (下段)

③ *rev3* 変異細胞の解析 : 上記「全個体発がん」表現型の原因解明の為に、培養細胞を用い Cytological 解析を行なった。「研究目標」の項でも述べたように、本遺伝子が欠損すれば、複製フォーク停止により DSB が増加すると予想される。DSB は染色体異常など染色体レベルでの異常の最有力要因である。そこで、染色体異常の発生を培養細胞にて観察した。野生株細胞では極めて低頻度 (0.5%) にしか異常が見られないが、*rev3* 変異細胞では極めて高頻度 (7.2%) に染色体異常が観察された。しかも、Dicentric, Tricentric, Ring 染色体など高線量放射線照射でしか見られないタイプの染色体異常が頻発している (図5)。このことは、本変異体細胞では自然増殖状態で DSB が高頻度に発生していることを示している。実際、DSB のマーカーであるヒストン H2VariantH2AX

のリン酸化が、野生株に比べ増加していた。そこで、DSBの直接検出による染色体上での分布を検討することとした。これにはEndSeqと呼ばれる、生細胞でDSBを直接マーキングし、その領域を増幅後NGSにより塩基レベルでDSB生成サイトを同定する方法を使用した。本法により、DSBが野生株に比べ大幅に増加しており、それらは基本的には全染色体に分布しているものの、いくつかの領域に頻度高く偏在していることが示された。以上から、*rev3*変異細胞ではDSBが頻発している事が染色体レベルで実証できた。次に、DSB誘発の原因となるゲノムストレスの実体をDNA合成速度により測定した。これにはDNA fiber assayを用いた。この方法は、マーカーとなるヌムレオチド(IdUおよびCldU)が一定時間にゲノムに取り込まれた量をDNA fiberの長さで計測し、合成速度を定量化する方法である。野生株に比べ、*rev3*変異細胞ではDNA合成速度が低下していることが確認できた(図6)。このことは、*rev3*変異細胞は常にゲノムストレスの脅威に晒されていることを示している。実際、通常のゲノム合成を行うPol α , Pol ϵ , Pol δ の特異的阻害剤であるaphidicolinによる生存率低下作用に高感受性になっている。以上から、「*rev3*活性欠損により複製フォーク停止が解除できなくなり、その結果DSBが増加し、ゲノム構造異常が誘発され、発がんにつながった」一連のメカニズムが実証できた。

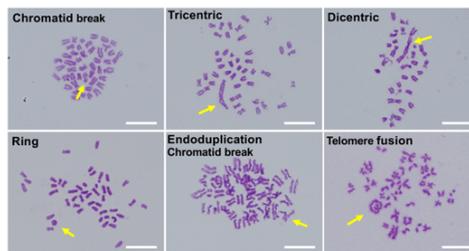


図5. *rev3*細胞で検出された染色体異常

④ **がん細胞のゲノム解析**: 8.5ヶ月個体腹腔から、Msi1-positiveのがん細胞を回収する事ができた(図7)。回収がん細胞のゲノムをNGSにより解析した。NGSデータからSVの検出を行なったところ、野生株ではほとんど変異が検出できないものの、がん細胞DNAでは極めて大量のSVが検出された。しかも、がん細胞回収と同一個体の鱗DNAでは、野生株同様低頻度でしかSVは検出できておらず、検出されたSVはがん細胞特異的なものであった。このがん細胞SVの特徴は、染色体内でのDeletion, Inversionが高頻度に関わり、しかも一部の染色体に局在している点である。また、SV局在染色体内でも、いくつかの領域に偏在している(図9)。更に、染色体内SVに加え、染色体間でのTranslocationも多数検出される。この場合も、一部の染色間で選択的にTranslocationが起こっており(図8)、更に興味深いことに、最近ヒトがん細胞で観察されている、Short Tandem Template(TST) Jumpが多く検出された。TST Jumpは、200bp以下の短い複製Fragmentがいくつも(<10箇所)連なったSVであり、最新がんゲノム解析から明らかになってきた。本*rev3*がん細胞でのTST Jumpの高頻度検出は、がん細胞共通のSV生成メカニズム解明に、本*rev3*変異体が優れたモデルシステムを提供できることを示している。

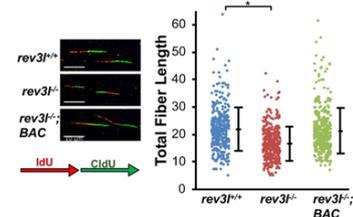


図6. DNA fiber assayによるDNA合成速度測定

④ **がん細胞のゲノム解析**: 8.5ヶ月個体腹腔から、Msi1-positiveのがん細胞を回収する事ができた(図7)。回収がん細胞のゲノムをNGSにより解析した。NGSデータからSVの検出を行なったところ、野生株ではほとんど変異が検出できないものの、がん細胞DNAでは極めて大量のSVが検出された。しかも、がん細胞回収と同一個体の鱗DNAでは、野生株同様低頻度でしかSVは検出できておらず、検出されたSVはがん細胞特異的なものであった。このがん細胞SVの特徴は、染色体内でのDeletion, Inversionが高頻度に関わり、しかも一部の染色体に局在している点である。また、SV局在染色体内でも、いくつかの領域に偏在している(図9)。更に、染色体内SVに加え、染色体間でのTranslocationも多数検出される。この場合も、一部の染色間で選択的にTranslocationが起こっており(図8)、更に興味深いことに、最近ヒトがん細胞で観察されている、Short Tandem Template(TST) Jumpが多く検出された。TST Jumpは、200bp以下の短い複製Fragmentがいくつも(<10箇所)連なったSVであり、最新がんゲノム解析から明らかになってきた。本*rev3*がん細胞でのTST Jumpの高頻度検出は、がん細胞共通のSV生成メカニズム解明に、本*rev3*変異体が優れたモデルシステムを提供できることを示している。

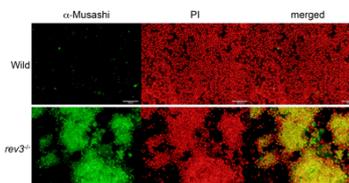


図7. 腹腔から回収した細胞の α Msi1抗体染色野生型(上段)、*rev3*変異体(下段)

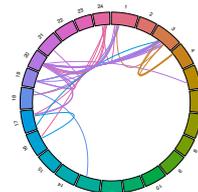


図8. tumor細胞での構造異常(Circos Plot)染色体間でのJump

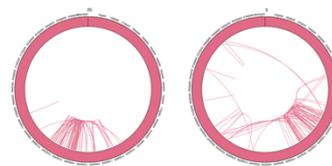


図9. tumor細胞での構造異常(Circos Plot)染色体内でのDeletion/Inversion(Ch3:右図; Ch20:左図)

(2) *rev1*変異体:

*Rev1*は多機能タンパク質であり、塩基が欠損したAPサイトに対する塩基挿入活性に加え、DNA複製が予期せずに停止した場所に集結する多様な因子の足場となるScaffoldタンパクとしての役割を持っている。前者の活性中心はタンパク質の中央に、後者はC末に存在しており、各々の機能を欠損したHN変異体、C末欠損変異体(LX)、更に全機能欠損変異体(RX)を作製し、化学発がん実験を行った。

① **化学発がん系の樹立**: 化学変異原としてはメダカでの肝臓がん誘発が知られているDENA(Diethylnitrosoamin)を用いた。RXおよびLXはDENAに対し極めて高感受性であり、低濃度で生存率が低下する。一方、HN変異体は野生株に比べ、わずかに高感受性になるものの、ほぼ同等の生存率を示した(図10a, b)。しかしなが

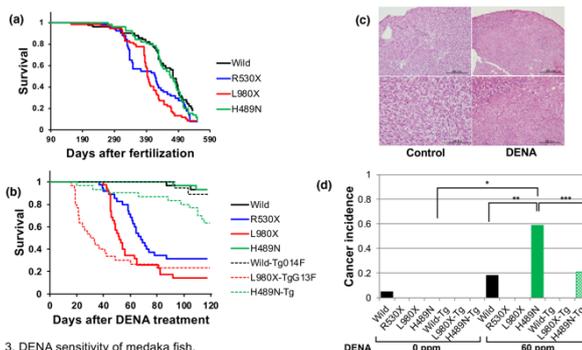


図10. *rev1*メダカでのDENA誘発肝臓がんDEN A処理後の生存率(a, b)、肝臓組織像(c)、処理4ヶ月後の発症割合(d)

3. DENA sensitivity of medaka fish.

ら、HN 変異体では、極めて高頻度に肝臓がんが誘発された。60ppm/2 週間処理で 4 ヶ月後に生存個体の 60%に肝臓がんが発症した(図 10 c, d)。野生株に比べ 3 倍の発がん率であった。

- ② **塩基レベルゲノム変異解析系の確立**: 本研究では、それぞれの変異原が起こす変異は必ずしも多くないため、変異の実態を詳細に捉える必要がある。現在のバイオインフォマティクスにおいて、次世代シーケンサを用いたヒトのゲノム上の変異同定においては、アラインメントソフトウェアとして BWA、アライメント後の変異同定ソフトウェアとして GATK を利用することが一般的となっているが、本研究の対象とするメダカのゲノムデータベースがヒトゲノムほど精度が高いものではないことや、GATK が計算する精度が今回要求されている精度に達していない問題点があり、新たに変異解析のソフトウェア EAGLE を開発した(添付論文 2)。EAGLE では、アライメントソフトウェアに産総研のマーティン・フリスらが開発した LAST を利用し、変異同定に独自のアルゴリズムを開発し、利用している。独自のアルゴリズムは、GATK の様に「変異あり」「変異なし」の同定ではなく、各塩基に対して変異が存在している確率を計算することで、確度の高い変異を得たい場合には、確率の高いところのみを、確度が低くても網羅的に変異を取りたい場合には、確率の低いところまで取ることを可能とするものである。特に、GATK に比べ 2-3 塩基の短い挿入・欠失の検出感度に優れていることが、計算機実験から明らかとなっている。本 EAGLE による、変異検出の結果をメダカ実験結果と対応させることで、GATK の様に予め決められた基準ではなく、対象のメダカとシーケンスタオリティに合った閾値を決め、精度高く変異を検出することが可能となった。

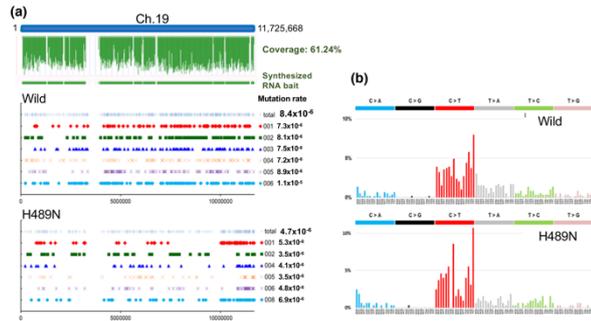


図11. DENA誘発塩基変異(Ch. 19) Ch. 19内での分布(左図)と変異スペクトラム(右図)

- ③ **rev1 変異細胞のゲノム解析**: rev1HN 変異体での高頻度 DENA 誘発肝臓がんの原因を解析する目的で、各変異体から培養細胞を樹立し、DENa 処理後、単一細胞由来コロニーのゲノム DNA を用い、EAGLE により誘発変異の解析を行なった(図 11)。HN 変異体では、野生株と比べほぼ同レベルでの変異しか起こっていなかった。また、塩基変異スペクトラムにより Mutational signature の検討を行ったが、HN、野生型細胞ともにアルキル化剤変異に特異的な signature を示した。しかしながら、検出された各塩基変異において、正常アレルと変異アレルの割合を計算したところ、HN 細胞では、多くの箇所では変異アレルが 100%検出される極端な偏りを示す事がわかった。更に大元のコロニーから単一細胞を分離し、Sanger Sequencing により塩基変異を同定したところ、細胞単位で塩基変異が正確に分布していることが明らかになった。本来、誘発変異は片方の染色体のみに誘発される為、それらはヘテロ接合になっているはずであるが、以上の結果は、HN 細胞では、高頻度に「ヘテロ接合性喪失(LOH)」が起こっている事を示しており、これを元に LOH 誘発モデルを提唱した(図 12)。以上の結果は、rev1-HN 変異体が、がん細胞で頻発する LOH の優れたモデル系となる事を示している。

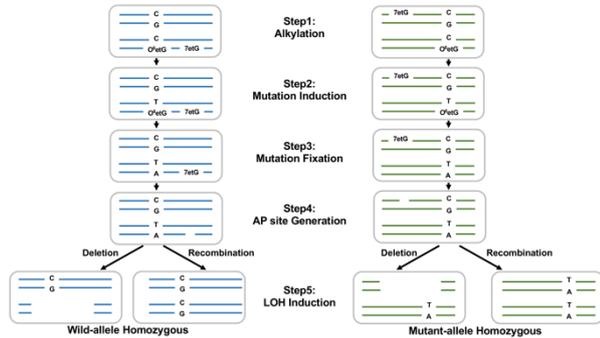


図12. rev1 HN変異メダカでのDENaによるLOH生成モデル

- ④ **肝臓特異的可視化**: *Fabp10a* 遺伝子プロモーターを用い、肝臓特異的可視化システムを樹立した。免疫染色、セルソーティング後の遺伝子解析ではいずれも *Fabp10a* が肝実質細胞に発現していることを確認した。

以上、本研究によりメダカを用いたユニークな自然発がん・化学発がんモデル実験系を樹立するとともに、そのゲノム解析手法の確立により、「染色体構造変異(SV)の特異的増加」および「LOHの高頻度生成」といった特徴的な性質を明らかにできた。いずれも、これまでに同定されていない世界初の系の作出である。この2つの系は、ヒトがんゲノム解析から発がんへの寄与が注目されている「SV」と「LOH」の生成メカニズム研究に今後大きく貢献できると考えている。また、我々の研究室では、DNA修復(*DNA-PKcs*, *Exo1*, *Msh2*, *XP-A*)、損傷応答制御(*ATM*, *ATR*, *p53*)等のメダカ変異体群を作製しており、これら遺伝子の、発がんへの影響、SV・LOH生成への関与を解析するといった今後の展開により、発がんメカニズム解明により貢献できると確信している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Fujikawa Y, Ishikawa-Fujiwara T, Kuo T, Shinkai N, Shoji T, Kawasaki T, Kamei Y, Sakuraba Y, Sato A, Kinoshita M, Gondo Y, Yuba S, Tsujimura T, Sese J, Todo T.	4. 巻 25
2. 論文標題 Involvement of Rev1 in alkylating agent-induced loss of heterozygosity in <i>Oryzias latipes</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes Cells.	6. 最初と最後の頁 124-138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12746.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Risa Kawaguchi, Hisanori Kiryu, Junichi Iwakiri, Jun Sese	4. 巻 20
2. 論文標題 reactIDR: evaluation of the statistical reproducibility of high-throughput structural analyses towards a robust RNA structure prediction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12859-019-2645-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tony Kuo, Martin Frith, Jun Sese, Paul Horton	4. 巻 11
2. 論文標題 EAGLE: Explicit Alternative Genome Likelihood Evaluator.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Medical Genomics	6. 最初と最後の頁 e-journal
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12920-018-0342-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Ishikawa-Fujiwara T, Shiraishi E, Fujikawa Y, Mori T, Tsujimura T, Todo T.	4. 巻 93
2. 論文標題 Targeted Inactivation of DNA Photolyase Genes in Medaka Fish (<i>Oryzias latipes</i>).	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Photochem Photobiol.	6. 最初と最後の頁 315-322
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/php.12658.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa T, Kashima M, Nagano AJ, Ishikawa-Fujiwara T, Kamei Y, Todo T, Mori K.	4. 巻 6
2. 論文標題 Unfolded protein response transducer IRE1-mediated signaling independent of XBP1 mRNA splicing is not required for growth and development of medaka fish.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Elife	6. 最初と最後の頁 e-journal
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.26845.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa T, Toyama T, Nakamura Y, Tamada K, Shimizu H, Ninagawa S, Okada T, Kamei Y, Ishikawa-Fujiwara T, Todo T, Aoyama E, Takigawa M, Harada A, Mori K.	4. 巻 99
2. 論文標題 OPR transducer BBF2H7 allows export of type II collagen in a cargo- and development stage-specific manner.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Cell Biol.	6. 最初と最後の頁 99-100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.201609100.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichi Yamagata, Ayako Yamanishi, Chikara Kokubu, Junji Takeda and Jun Sese.	4. 巻 44
2. 論文標題 COSMOS: accurate detection of somatic structural variations through asymmetric comparison between tumor and normal samples.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 e78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkw026.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uemura N, Koike M, Ansai S, Kinoshita M, Ishikawa-Fujiwara T, Matsui H, Naruse K, Sakamoto N, Uchiyama Y, Todo T, Takeda S, Yamakado H, Takahashi R.	4. 巻 e1005065
2. 論文標題 Viable neuronopathic Gaucher disease model in Medaka (<i>Oryzias latipes</i>) display axonal accumulation of Alpha-Synuclein.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 PLoS Genet.	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1005065.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 10件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Tomoko Fujiwara, Yoshihiro Fujikawa, Takeshi Todo
2. 発表標題 Involvement of Trans Lesion Synthesis DNA polymerase on maintenance of Genome stability
3. 学会等名 日本放射線影響学会第62回大会 <ワークショップ> Latest study for genetic effects of radiation (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤原 智子、藤川 芳宏、藤堂 剛
2. 発表標題 メダカBAP1 遺伝子変異体の作製
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤川 芳宏、藤原 智子、佐藤 鮎子、佐久間 哲史、山本 卓、児玉 靖司、辻村 亨、藤堂 剛
2. 発表標題 年齢・組織依存の高発がんモデル：メダカ rev3l 変異体
3. 学会等名 日本放射線影響学会第61回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤川 芳宏、藤原 智子、佐藤 鮎子、佐久間 哲史、山本 卓、児玉 靖司、辻村 亨、藤堂 剛
2. 発表標題 メダカ rev3l 変異体における染色体不安定性の消化管腫瘍への関与
3. 学会等名 日本環境変異原学会第47回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤堂 剛
2. 発表標題 DNA 損傷修復とゲノム変異
3. 学会等名 第16回日本乳癌学会近畿地方会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤堂 剛
2. 発表標題 光と生命
3. 学会等名 変異機構研究会第31回夏の学校（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀬々潤
2. 発表標題 Statistical significance of marker combinations: theory and applications
3. 学会等名 International workshop for systems genetics.（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 瀬々潤
2. 発表標題 高次の組み合わせの効果を見出すための多重検定補正法と生命科学データ解析への応用
3. 学会等名 応用数理学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤川 芳宏、藤原 智子、佐藤 鮎子、佐久間 哲史、山本 卓、辻村 亨、藤堂 剛
2. 発表標題 メダカにおける rev3l 変異体の紫外線誘発突然変異と消化管腫瘍の解析
3. 学会等名 日本環境変異原学会第46回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤原(石川) 智子、藤川芳宏、藤堂剛
2. 発表標題 CRISPRによる光回復酵素遺伝子群ノックアウトメダカの作製
3. 学会等名 第39回日本光医学・光生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤川芳宏、藤原智子、佐藤鮎子、佐久間哲史、山本卓、辻村亨、藤堂剛
2. 発表標題 rev3l 変異体メダカの生殖組織および消化管腫瘍の解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会第60回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤堂 剛
2. 発表標題 メダカを用いた光回復酵素・クリプトクロームファミリーの機能解析
3. 学会等名 第19回日本光生物学協会年会(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤川 芳宏、藤原(石川) 智子、佐久間 哲史、山本 卓、藤堂 剛
2. 発表標題 メダカ Rev3L 変異体の紫外線および放射線感受性の解析
3. 学会等名 第38回 光医学・光生物学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤川 芳宏、藤原(石川) 智子、佐久間 哲史、山本 卓、藤堂 剛
2. 発表標題 Rev3L変異体メダカの放射線および紫外線感受性の解析
3. 学会等名 日本放射線影響学会 第59回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yoshihiro Fujikawa, Tomoko Ishikawa-Fujiwara, Tetsushi Sakuma, Takashi Yamamoto, Tohru Tsujimura, Takeshi Todo
2. 発表標題 Targeted inactivation of rev3l in medaka (<i>Oryzias latipes</i>)
3. 学会等名 10th 3R International Symposium ((国際学会))
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takeshi Todo
2. 発表標題 Targeted inactivation of DNA photolyase family genes using CRISPR system,
3. 学会等名 The 7th Asia Oceania Conference of Photobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤川芳宏、藤原(石川)智子、佐久間哲史、山本卓、藤堂剛
2. 発表標題 TALENを利用したメダカのRev3L, Rev7遺伝子変異体の作製
3. 学会等名 第37回日本光医学・光生物学会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 藤川芳宏、藤原(石川)智子、佐久間哲史、山本卓、藤堂剛
2. 発表標題 ゲノム編集技術(TALENs)を用いた損傷乗換えDNA合成ポリメラーゼ(Rev3L, Rev)変異体メダカの作製
3. 学会等名 第21回小型魚類研究会
4. 発表年 2015年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 藤原(石川)智子、藤堂剛	4. 発行年 2015年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 301
3. 書名 光老化科学の最前線」第1章「DNA光化学と概日リズム」	

1. 著者名 真嶋哲朗、飯野盛利、七田芳則、藤堂剛(編集)	4. 発行年 2016年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 422
3. 書名 光と生命の事典	

〔産業財産権〕

〔その他〕

放射線基礎医学教室
<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/radbio/www/index.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	辻村 亨 (TSUJIMURA tohru) (20227408)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	
研究分担者	弓場 俊輔 (YUBA shunsuke) (40263248)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員 (82626)	
研究分担者	瀬々 潤 (SESE jun) (40361539)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・情報・人間工学領 域・招聘研究員 (82626)	
研究分担者	川崎 隆史 (KAWASAKI takashi) (60356839)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員 (82626)	
研究分担者	吉村 崇 (YOSHIMURA takashi) (90323336)	大阪大学・放射線科学基盤機構附属ラジオアイソトープ総合 センター・教授 (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	藤原 智子 (石川智子) (ISHIKAWA-FUJIWARA tomoko) (70402922)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関