

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19370004
 研究課題名（和文）
 DNA組換えにおける、相同性識別忠実度を支配する分子機構
 研究課題名（英文）
 Molecular mechanism for the accurate recognition of homologous sequences
 研究代表者
 柴田 武彦 (Shibata Takehiko)
 独立行政法人理化学研究所・柴田遺伝制御科学研究室・上席研究員
 研究者番号：70087550

研究成果の概要（和文）：

は遺伝情報の恒常性維持と多様化という相反する機能を担う。そこで高忠実度相同性識別を行なう RecA/Rad51 型蛋白質と、識別が甘いと考えられる ATP に依存しない相同 DNA 対合蛋白質とを比較解析した。相同対合中間体 DNA 構造解析結果は、蛋白質の種類によらず相同 DNA 対合の基本機構は共通であることを示した。ところが、ATP 不要の Mhr1 の反応産物は RecA/Rad51 が作る D ループでなく、三重鎖であることが示され、両群の蛋白質の役割分担が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Homologous DNA recombination plays roles in the maintenance of genome integrity and in genetic diversification. While RecA/Rad51 homologous pairing proteins pairs DNA molecules with an exact sequence matching by an ATP-hydrolysis-dependent reaction, ATP-independent pairing proteins is unlikely to have such a function. To understand the molecular bases of the recombination functions, we compared RecA/Rad51 and ATP-independent homologous pairing proteins in their reactions. NMR analyses indicate that basic mechanisms of homologous pairing are common independent of the proteins. On the other hand, biochemical and topological studies suggest that an ATP-independent protein generates triplexes, instead of D-loops which RecA/Rad51 produces. These results suggest roles of the two groups of the proteins in homologous recombination.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2008 年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
2009 年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学 ・ 遺伝・ゲノム動態

キーワード：(1) ゲノム構築・機能・再編・発現・維持 (2) 相同 DNA 組換え (3) RecA/Rad51 型相同対合蛋白質 (4) ATP 非依存型相同 DNA 対合蛋白質 (5) 組換えメディエーター (6) ヘテロ二重鎖形成 (7) 並行三重鎖 DNA (8) DNA トポロジー

1. 研究開始当初の背景

相同 DNA 組換えは、酸素呼吸の副産物などで常時起こるゲノム DNA の二重鎖切断を正確に修復する機能と、有性生殖の配偶子形成過程で、倍数体細胞に一つずつある全相同染色体を厳密にひとつずつ姉妹細胞に分配して半数体細胞を作り、同時に遺伝的多様性を創る減数分裂の過程に必要である。数千塩基対にも及ぶ繰り返し配列や、塩基配列がよく似た遺伝子が幾つもあるにも係わらず、染色体は、減数分裂で対立遺伝子座間だけで相反型相同的組換え（交叉）を行なう。一方、DNA の部分が組換え相手の似た塩基配列で置き換えられる型の相同的組換え（ジーンコンバージョン）は、対立遺伝子以外とも起こる。細菌や酵母から高等動物まで、全ての相同的組換え共通の中間体であるヘテロ二重鎖を作る反応は、RecA/Rad51 型相同 DNA 対合蛋白質（原核生物の RecA、真核生物 Rad51、Dmc1）が行う。RecA により生成されるヘテロ二重鎖では、置き換えられた親二重鎖 DNA の DNA 鎖がループとして電子顕微鏡観察されたことから、「D ループ」とも呼ばれる。RecA は 1 分子あたりには、約 3 塩基長の DNA 部分しか結合しないが、かなり正確に一本鎖 DNA と二重鎖 DNA との間の塩基配列相同性を識別する。この能力が、どのような分子機構で行われるか、どのように相同的組換えでの相同性識別の忠実度が制御されているかについての理解が、相同 DNA 組換えの持つ、遺伝情報の恒常性維持と多様化という相反する機能についての理解の基礎である。

提案者は、(1) RecA の相同 DNA 対合活性を見つけた (Shibata *PNAS* 1979) 直後、DNA 基質が短い直鎖一本鎖 DNA と、DNA 鎖に端をもたない閉環状二重鎖 DNA との場合、RecA が D ループを形成した後、ATP 分解依存的に D ループを解離し、その後再び相同 DNA 対合を繰り返すことを明らかにした (D ループサイクル ; Shibata *JBC* 1982)。この繰り返しが、塩基配列相同性の高忠実度識別に働くのではないかと推論した。その後、Dmc1, Rad51 についても強弱はあるが D ループサイクル様な反応を行うことが示された。(2) 最近、重森康司、美川務らとの研究で、PCR (DNA 合成酵素連鎖反応) に RecA と ATP とを加えると、非特異的 DNA 複製が強く抑制され、ひとつのチューブで同時に 14 対のプライマーそれぞれについて正確に DNA 増幅できることを示した (multiplex PCR ; Shigemori *NAR* 2005)。この結果は、RecA 自身が、相同性の低い、ミスマッチ塩基対を含む対合を排除し、高い忠実度で相補配列を対合する機能を持つことを示す。(3) 一方、胡桃坂仁志ら、凌との研究で明らかにした ATP を必要としない一群の相同 DNA 対

合蛋白質 (RAD52, XRCC3-RAD51C, Mhr1) は、短い直鎖一本鎖 DNA と閉環状二重鎖 DNA を基質としても、ヘテロ二重鎖の解離を行なわない。さらに別のグループが見つけた RecO, RecT, BRCA2 も含め、ウイルスとミトコンドリアの蛋白質以外はすべて、相同 DNA 組換えにおいて、RecA/Rad51 型蛋白質のパートナーとして必要なことが知られている。それらの ATP 非依存型相同 DNA 対合蛋白質の、組換えメディエーターとしての機能は確立しているが、その相同対合機能の組換えでの役割は不明である。組換えメディエーターとは、生体内で DNA 二重鎖切断に続いてできる単鎖 DNA 領域に結合する単鎖 DNA 結合蛋白質 (SSB/RPA) を RecA/Rad51 に置き換える機能をもつ蛋白質を指す。(4) 平成 10 年から 5 年間行なった CREST 研究により、ニワトリ B 細胞由来培養細胞で集団の過半数という超高頻度相同的組換え人為的誘導で、任意の抗原に対する抗体の迅速生産技術開発に成功した (ADLib 法 ; Seo *Nature Biotech* 2005)。この組換え系では似てはいるが、異なる塩基配列をもつ偽遺伝子の部分のコピーで可変領域の一部を置き換える相同的組換えの繰り返しで新規の特異性をもつ抗体蛋白質遺伝子ができる。ここでは、ヘテロ二重鎖に 10%程度ものミスマッチ (mismatch) 塩基対を許容しなければならず、生体は目的に応じて相同 DNA 対合の忠実度を制御していると推定できる。

2. 研究の目的

相同 DNA 対合忠実度の制御は、恒常性維持と多様化という、相同的組換えによる相反するゲノム情報制御の理解に重要な手掛かりとなる研究課題である。RecA は、試験管内で、ATP 分解依存の分枝点移動活性で、数千塩基対ものヘテロ二重鎖を形成する能力を持つ。一方、最初のヘテロ二重鎖の核形成は、8-9 塩基対もあれば十分といわれている。これは、我々が、NMR 分光法で決めた RecA に結合した伸張 DNA 構造 (Nishinaka *JBC* 1997) を中心にもつ RecA-DNA 繊維状複合体のちょうど半周分に当たり、二重鎖 DNA と一本鎖 DNA とがトポロジカルな問題を生じることなく分子間衝突で塩基配列の相同性を確かめる機構を説明するには具合がよい。

一方、同じ DNA 構造を元に、相同的対合には DNA の伸張構造での塩基対の開裂と塩基の水平回転が働いているとの仮説を提案した (Nishinaka *PNAS* 1998)。それを支持する結果として、相同的対合にはより不安定な A-T 塩基対が主要な働きをしており、G-C 塩基対では不整合対合が受容され易いとの報告があり、最初のヘテロ二重鎖の核形成での相同性識別の忠実度はそれほど高くない可能性を示す。RecA でも、ヘテロ二重鎖の核形成は ATP 分解に依存しない。その核から 100 塩基対程度までのヘテロ二重鎖伸張は、ATP 分解なしに進行する。

ATP に依存する RecA/Rad51 型相同対合蛋白質による反応と ATP を必要としない RecO などによ

る反応を比較することで、これら両群の蛋白質による相同 DNA 対合の機構の共通性と違い、相同性識別の忠実度と異なる配列への許容度をきめている要因、これら 2 群の相同 DNA 対合蛋白質を必要としている相同 DNA 組換えでの、それぞれの群の相同 DNA 対合蛋白質の機能を明らかにすることを旨とした。

3. 研究の方法

解析の手段として、生化学、酵素学の手法の他、NMR、蛍光などの分光学的手法、電子顕微鏡や、X 線結晶構造解析も合わせて用いることで、立体構造レベルでの知見獲得も目指した。これらの手法で、高忠実度相同性識別を行なう RecA/Rad51 型蛋白質と、ATP 分解活性をもたず、識別が甘いと考えられる RecO, RAD52, Mhr1, RecT という ATP 非要求型相同 DNA 対合蛋白質とを比較解析した結果興味深い結果を得ることができた。

4. 研究成果

(引用文献は、第 1 著者、雑誌名略称、年号を記載)

(1) ATP 非依存型相同 DNA 対合蛋白質は、ミスマッチを含む対合体排除機能を持たない：好熱細菌 *Thermus thermophilus* の TtRecA を PCR (DNA 合成酵素連鎖反応) 反応系に加えると、非特異的な DNA 複製が強く抑制されることを我々は明らかにし、Multiplex PCR システムとして世の中に出している (Shigemori *NAR* 2005 ; 特許番号 4455335)。この効果は ATP 加水分解に依存することから、RecA は、D ループサイクルの発見 (Shibata *JBC* 1982) で推定されたように、ATP の結合、分解のサイクルでミスマッチを含まないプライマー・鋳型 DNA 対合体を選択する機能を持つことを示唆する。そこで、multiplex PCR において、ATP 非依存的に相同 DNA 対合を行う活性をもつ蛋白質で RecA を置き換えたところ、非特異的な DNA 合成を全く抑制しなかった。この結果は推定通り、PCR における非特異的な DNA 複製抑制は RecA の相補配列をもつ DNA 対合の機能ではなく、ATP 水解に依存した対合・対合体解離のサイクルがミスマッチ対合校正機能として働くことを支持する。

(2) すべての相同 DNA 対合蛋白質による対合反応に共通な反応中間体 DNA 構造: RecO, Rad52 のもう一つの顔である組換えメディアエーターの全てが ATP 不要の相同 DNA 対合活性をもつ。組換えメディアエーターは、強い相補配列をもつ単鎖 DNA のアニーリング活性を持つことが以前から知られていた (RecA もアニーリング活性をもつ) ことから、組換えメディアエーターが行う反応はアニーリン

グの変形であり、RecA/Rad51 型蛋白質が行う二重鎖 DNA と単鎖 DNA とによる相同 DNA 対合反応とは基本的に異なると主張が強かった。そこで、RecA/Rad51 型蛋白質と RecO, RAD52, Mhr1 などの ATP 非要求型相同 DNA 対合蛋白質とを比較解析では、この議論についての明確な回答を得ることも念頭に置いた。RecA/Rad51 型相同対合蛋白質においても、ATP 非依存型相同 DNA 対合においても、相同 DNA 対合反応では、先ず蛋白質が単鎖 DNA に結合してから、二重鎖 DNA と取り込まれ、ヘテロ二重鎖ができる。我々は、NMR 分光法により、大腸菌の EcRecA または出芽酵母の ScRad51 に結合した単鎖 DNA が、生体内の主要な型、B 型二重鎖 DNA にある 0.35nm 間隔の塩基間スタッキングができない、特異な引き伸ばされた構造をもつことを明らかにした。また、それを基礎に相同 DNA 対合の機構モデルを提案した (Nishinaka *PNAS* 1997, 1998; Shibata *PNAS* 2001)。そこで、RecA/Rad51 型蛋白質からヒトの HsRAD51 を、また、ATP 非依存的相同 DNA 対合として、進化的位置、また、蛋白質構造も大きく異なる真正細菌の TtRecO、出芽酵母ミトコンドリアの ScMhr1、細菌ウイルスの EcRecT を選び、それらの蛋白質に結合した単鎖 DNA について、NMR による立体分子構造の比較解析を行った。その結果、全てに共通して先に EcRecA と ScRad51 について明らかにした特異な伸長構造をとっていることが分った (図 1)。さらに、一昨

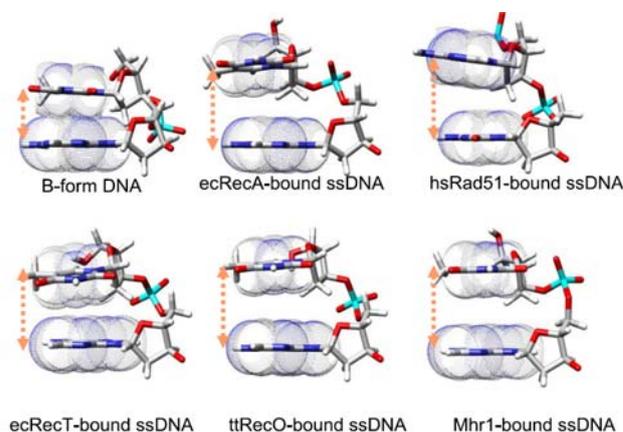


図 1. 相同 DNA 対合蛋白質が共通に誘導する単鎖 DNA の伸長構造 Masuda *JBC* 284, 30230 (2009)

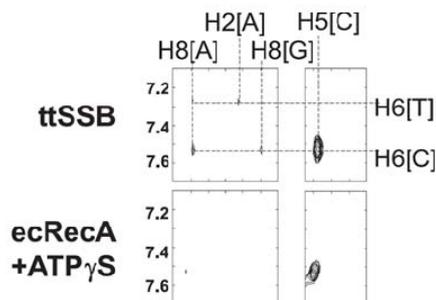


図 2. SSB に結合した単鎖 DNA の NMR 信号の比較 Masuda *JBC* 284, 30230 (2009)

年 RecA-単鎖 DNA 複合体結晶構造が解かれたが、その中の単鎖 DNA の構造は基本的に我々が NMR で解いた構造と共通な特徴を持っていることを確認した (Masuda *JBC* 2009)。一方、対照実験の単鎖 DNA 結合蛋白質 TtSSB に結合した単鎖 DNA は、この解析では、塩基スタッキングの特徴を示し、伸長構造をとらないことが分かった (図 2)。この結果は、ATP 依存型、非依存型を問わず反応中間体の DNA 構造は共通であること示す。さらに、中間体 DNA の構造が共通であることから、相同 DNA 対合の分子反応機構は、RecA/Rad51 型相同対合蛋白質でも、ATP 非要求型の相同 DNA 対合蛋白質でも、基本的には共通であることが、明らかになった (Masuda *JBC* 2009)。

(3) ATP 非要求型相同 DNA 対合蛋白質 Mhr1 が行う相同 DNA 対合反応とその産物：

RecA/Rad51 型相同対合蛋白質は、超らせんを持たない二重鎖 DNA でも相同 DNA 対合を行えるが、二重鎖 DNA の右巻きの超らせんで反応が大きく促進される (Shibata *JBC* 1981)。これまで、ATP 非依存型蛋白質による相同 DNA 対合の研究には右巻き超らせんをもつ二重鎖 DNA を基質に用いてきた。右巻き超らせんをもつ二重鎖 DNA は、部分的に塩基対が融解して単鎖 DNA になりがちであるため、アニーリング活性が強い ATP 非要求型の蛋白質による相同 DNA 対合は、アニーリングの変形であるという議論を許してきていた。そこで、生体内の相同 DNA 組換えでも RecA/Rad51 型蛋白質を必要としない ScMhr1 が触媒する相同 DNA 組換え反応への二重鎖 DNA の超らせんの影響を解析した。

酵母ミトコンドリア (mt) DNA で起こる相同 DNA 組換えは、RecA/Rad51 型相同対合蛋白質は関与せず、ATP 非依存型の相同 DNA 対合である ScMhr1 が行うことを我々が明らかにしている (Ling *EMBO J* 2002)。この ScMhr1 が行う相同 DNA 対合反応のを解析したところ、右巻きの超らせんが却って相同 DNA 対合を邪魔すること、弛緩した閉環状二重鎖 DNA と直鎖二重鎖 DNA とで同じ程度に相同 DNA 対合が起こることが分かった (Ling *JBC* 2009)。相同 DNA 対合では、Mhr1 もまた、DNA の伸長を中間状態としてとるが、二重鎖 DNA の伸長は必然的に二重ラセンを巻き戻すために、もともと右巻きの超らせんをもつ DNA は反応を促進し、弛緩した閉環状二重鎖 DNA は反応を妨害するはずであるため、この結果は極めて意外である。そこで、さらに詳細な相同 DNA 対合反応で DNA のトポロジカルな解析を行ったところ、香川、胡桃坂らと HsRAD52 で明らかにした (Kagawa *JBC* 2008) ように二重鎖 DNA が、巻き戻した形で、蛋白質の周囲を右巻きに巻

き付いた中間体を経るというモデルで説明できることが分かった (図 3)。さらに、Mhr1 による相同 DNA 対合反応産物では、親 DNA の二重ラセンは全く巻き戻されていないことも分り、D ループではありえないことが分かった。この結果を説明できる唯一知られている DNA 構造は並行三重鎖である (Ling *JBC* 2009)。RecA による相同 DNA 対合でも特別な基質を用いた場合には並行三重鎖中間体の形成が示唆されていたが、より直接的な証拠であるトポロジカルな解析で並行三重鎖の存在が示されたのは初めてである。

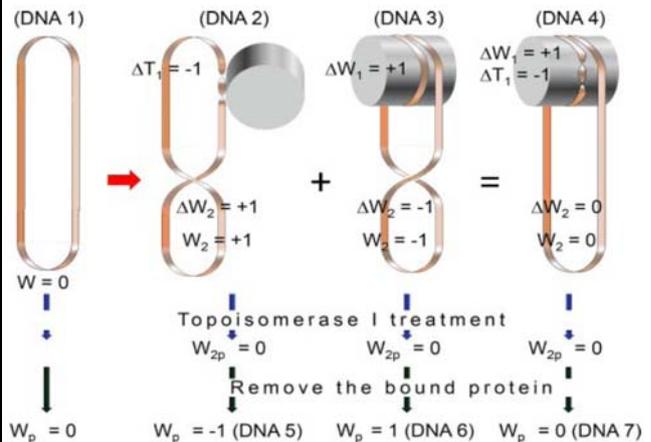


図 3. ScMhr1 が行う見かけ上 DNA トポロジックな変化を伴わない相同 DNA 対合反応機構のモデル。Ling *JBC* 284, 9341 (2009)

(4) 相同 DNA 組換えでの、ATP に依存する RecA/Rad51 型相同対合蛋白質と ATP 非依存型相同 DNA 対合蛋白質の機能についての考察：生体の相同 DNA 組換えでは、ヘテロ二重鎖形成で ATP 分解に依存して高忠実度の相同 DNA 対合を行う RecA/Rad51 型相同対合蛋白質は、忠実度が低い相同 DNA 対合を行う ATP 非依存型の相同 DNA 対合を、必ずパートナーとして必要としている。一方、ATP 非依存型の相同 DNA 対合蛋白質だけによる相同 DNA 組換え系は、酵母ミトコンドリアとウイルスで知られているがいずれも、真正細菌 (10^6 塩基対) に比べてもゲノムサイズが小さい ($<10^5$ 塩基対)。ATP 非依存型の相同 DNA 対合蛋白質は、組換えメディエーターとして単鎖 DNA 結合蛋白質が結合した単鎖 DNA 部分に RecA/Rad51 型相同対合蛋白質を載せるために必要としていることは知られていた。本研究で明らかにした、RecA/Rad51 型相同対合蛋白質と共通の相同 DNA 対合基本機構、忠実度の低い相同 DNA 対合機能、DNA トポロジー的影響がない相同 DNA 対合と対合産物は、ATP 非要求型相同 DNA 対合蛋白質が、ヌクレオソーム構造などでトポロジー的な自由度を持たないゲノム二重鎖 DNA を相手に、まず粗く相同配列を探し出してから、RecA/Rad51 型相同対合蛋白質が精密に相補配列を探し出して、ヘテロ二重鎖を成長させると同時に対合体を D ループにして、修復 DNA 合成へ進み、相同 DNA 組換え体形成を行うという、2 段階相同 DNA 対合の機構の存在が示唆される。

今後、この仮説を検証し、その知識を交配育種や新機能蛋白質創出に活かすという方向の研究が拓かれる。例えば、相同 DNA 対合の忠実度を制御して、既存の遺伝子の部分の新しい組み合わせを作ること新機能を蛋白質を創出することが考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)
〔雑誌論文〕(計 9 件)

1. Masuda, T., Ling, F., Shibata, T. and Mikawa, T.: "Analysis of DNA-binding sites on Mhr1, a yeast mitochondrial ATP-independent homologous pairing protein," *FEBS J.*, **277**, 1440-1452 (2010). 査読有
2. Masuda, T., Ito, Y., Terada, T., Shibata, T. and Mikawa, T.: "A non-canonical DNA structure enables homologous recombination in various genetic systems," *J. Biol. Chem.*, **284**, 30230-30239 (2009). 査読有
3. Ling, F., Yoshida, M. and Shibata, T.: "Heteroduplex joint formation free of net topological change by Mhr1, a mitochondrial recombinase," *J. Biol. Chem.*, **284**, 9341-9353 (2009). 査読有
4. Hikiba, J., Takizawa, Y., Ikawa, S., Shibata, T. and Kurumizaka, H.: "Biochemical analysis of the human DMC1-I37N polymorphism," *FEBS J.*, **276**, 457-465 (2009). 査読有
5. Kagawa, W., Kagawa, A., Saito, K., Ikawa, S., Shibata, T., Kurumizaka, H. and Yokoyama, S.: "Identification of a second DNA binding site in the human Rad52 protein," *J. Biol. Chem.*, **283**, 24264-24273 (2008). 査読有
6. Hikiba, J., Hirota, K., Kagawa, W., Ikawa, S., Kinebuchi, T., Sakane, I., Takizawa, Y., Yokoyama, S., Mandon-Pepin, B., Nicolas, A., Shibata, T., Ohta, K. and Kurumizaka, H.: "Structural and functional analyses of the DMC1-M200V polymorphism found in the human population," *Nucleic Acids Res.*, **36**, 4181-4190 (2008). 査読有
7. Honda, M., Fujisawa, T., Shibata, T. and Mikawa, T.: "RecR forms a ring-like tetramer that encircles dsDNA by forming a complex with RecF," *Nucleic Acids Res.*, **36**, 5013-5020 (2008). 査読有
8. Sakane, I., Kamataki, C., Takizawa, Y., Nakashima, M., Toki, S., Ichikawa, H., Ikawa, S., Shibata, T. and Kurumizaka, H.: "Filament formation and robust

strand exchange activities of the rice DMC1A and DMC1B proteins," *Nucleic Acids Res.*, **36**, 4266-4276 (2008). 査読有

9. Inoue, J., Honda, M., Ikawa, S., Shibata, T. and Mikawa, T.: "The process of displacing the single stranded DNA binding protein from single stranded DNA by RecO and RecR proteins," *Nucleic Acids Res.*, **36**, 94-109 (2008). 査読有

〔学会発表〕(計 34 件)

1. Shibata, T., "Search for new functions of a recombination mediator, RAD52." International Symposium on Chromosome cycle and genome dynamics, 2009年11月11-12日, Nasu, Tochigi
2. Mikawa, T., "Role of RecF, RecO, RecR proteins in SSB displacement from single-stranded DNA." FASEB Summer Research Conferences, Genetic Recombination & Genome Rearrangements, 28 July-2 August 2007, Snowmass Village, CO, USA
3. Mikawa, T., "The rearrangement of SSB on ssDNA by the RecF pathway proteins." FASEB Summer Research Conferences, Genetic Recombination & Genome Rearrangements, 28 July-2 August 2007, Snowmass Village, CO, USA
4. 柴田武彦、「相同DNA組換えにおける2種の相同DNA対合蛋白質の役割分担」第27回染色体ワークショップ、2010年1月21-22日、静岡県御殿場市
5. 増田ときは、「The universal structure of ssDNA in homologous recombination」、第32回日本分子生物学会年会、2009年12月7-10日、神奈川県横浜市
6. 井上仁、「NMR analyses of interactions of RecO with SSB and ssDNA」、第32回日本分子生物学会年会、2009年12月7-10日、神奈川県横浜市
7. 井上仁、「*Thermus thermophilus* HB8のDNA相同組換え系」、理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト第8回連携研究会」、2009年8月21日-23日、兵庫県播磨
8. 井上仁、「NMR解析によるRecO上のSSB結合部位の同定」、第9回日本蛋白質科学会年会、2009年5月20-22日、熊本県熊本市
9. 柴田武彦、「DNAの位相幾何学的変化を伴わない組換え中間体形成」、第26回染色体ワークショップ、2009年1月26-28日、兵庫県姫路市
10. 凌楓、「ミトコンドリアの相同組換え酵素反応へのDNAの高次構造の効果」、第8回日本ミトコンドリア学会年会、2008年12月18-21日、東京
11. 新井直人、「出芽酵母 Rad52-Rad51 複合体

- による D-loop 形成における Rad52 の二本鎖 DNA への結合の影響」、第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008 年 12 月 9-12 日、兵庫県神戸市
12. 増田ときは、「相同組換えに重要な DNA 特異的な構造変化」、第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008 年 12 月 9-12 日、兵庫県神戸市
 13. 井上仁、「Identification of the SSB binding site on RecO by NMR analysis」、理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト第 8 回連携研究会」、2008 年 09 月 13 日-15 日、兵庫県播磨
 14. 井上仁、「RecO, RecR 蛋白質による SSB の ssDNA からの解離のメカニズム」、第 8 回日本蛋白質科学会年会、2008 年 6 月 10 日-12 日、東京
 15. 美川務、「相同的 DNA 組換え反応を調節する組換えメディアーター蛋白質群の構造と機能」、第 8 回日本蛋白質科学会年会、2008 年 6 月 10 日-12 日、東京
 16. 柴田武彦、「体細胞の DNA 組換えに働く 3 種の制御」、公開シンポジウム：進化リアクター・セルスタット 30 年と進化タンパク質工学の進展、(埼玉県中小企業振興公社、埼玉大学)、2008 年 5 月 17 日、埼玉県さいたま市
 17. 井上仁、「RecO, RecR 蛋白質による SSB の ssDNA からの解離のメカニズム」、2007 年度組換え・染色体再編ワークショップ、2008 年 3 月 4 日、伊豆
 18. 柴田武彦、「繰り返し塩基配列での相同 DNA 組換え開始の多様な機能」、2007 年度組換え・染色体再編ワークショップ、2008 年 3 月 4 日、伊豆
 19. 井上仁、「RecO, RecR 蛋白質による一本鎖 DNA 結合蛋白質 (SSB) の一本鎖 DNA からの解離機構の解明」、第 25 回染色体ワークショップ、2008 年 1 月 30 日、熱海
 20. Masuda, T., 「Functional analysis of Mhr1 protein involved in homologous recombination and replication of mtDNA」、日本ミトコンドリア学会第 7 回年会、2007 年 12 月 21 日、鹿児島
 21. 増田ときは、「相同組換え蛋白質が共通して誘導する一本鎖 DNA 伸張構造」、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 (BMB2007)、2007 年 12 月 11 日、横浜
 22. 増田ときは、「相同組換え蛋白質が共通して誘導する一本鎖 DNA 伸張構造」、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 (BMB2007)、2007 年 12 月、横浜

23. 井上仁、「The process of displacing the single stranded DNA binding protein from single stranded DNA by the RecF pathway proteins」、理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト」第 6 回連携研究会、2007 年 8 月、播磨

他 11 件

〔図書〕 (計 1 件)

1. Mikawa, T., Ikeda, M. and Shibata, T.: "Epitope mapping by region-specified pcr-mutagenesis," in *Epitope mapping protocols: second edition*. Methods in Molecular Biology. vol. 524, (Reineke, U. and Schutkowski, M., eds) pp. 305-313, The Humana Press Inc., New York, NY, USA (2009).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 武彦 (Shibata Takehiko)

独立行政法人理化学研究所・柴田遺伝制御科学研究室・上席研究員

研究者番号：70087550

(2) 研究分担者

美川 務 (Mikawa Tsutomu)

独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・専任研究員

研究者番号：20321820

井上 仁 (Inoue Jin)

独立行政法人理化学研究所・柴田遺伝制御科学研究室・協力研究員

研究者番号：10469893

(3) 連携研究者

【研究協力者】

凌 楓 (Feng Ling) 独立行政法人理化学研究所・吉田化学遺伝学研究室・専任研究員

胡桃坂 仁志 (Hitoshi Kurumizaka) 早稲田大学・理工学術院・教授

香川 亘 (Wataru Kagawa) 早稲田大学・理工学術院・講師

新井 直人 (Naoto Arai) 日本大学・生物資源科学部・講師

増田 ときは (Tokiha Masuda) 横浜市立大学大学院・生体超分子科学専攻・博士後期課程学生