

機関番号：33303
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20510056
 研究課題名（和文） モノユビキチン化 53BP1 による非相同末端結合修復制御機構の解明
 研究課題名（英文） Regulation of Non-homologous end joining
 by mono-ubiquitination of 53BP1
 研究代表者：
 岩淵 邦芳 (IWABUCHI KUNIYOSHI)
 金沢医科大学・医学部・教授
 研究者番号：10232696

研究成果の概要（和文）：

我々は Rad18 が、53BP1 と同様に、細胞への X 線照射に反応して DNA 二重鎖切断(DNA double-strand break : DSB) 部位に集積しフォーカスを形成することを見出した。X 線による Rad18 のフォーカス形成は G1 期細胞においてのみ 53BP1 依存性であり、さらに Rad18 と 53BP1 との結合依存性であった。Rad18 は、in vitro で 53BP1 の 1268 番目のリジン残基をモノユビキチン化し、さらに、Rad18 は 53BP1 のモノユビキチン化を介して 53BP1 のフォーカスを安定化させた。53BP1 および Rad18 は、G0-G1 期細胞に発生した DSB の修復を亢進させた。Rad18 による DSB 修復の亢進には 53BP1 と Rad18 の結合、Rad18 による 53BP1 のモノユビキチン化が必要であった。以上より、G0-G1 期細胞において Rad18 は、53BP1 との結合を介して DSB 部位に集積し、その後 53BP1 をモノユビキチン化することにより 53BP1 の DSB 部位でのクロマチン結合を安定化させ、その結果 53BP1 による DSB の修復を亢進させることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We show that RAD18 is recruited at sites of DNA double-strand breaks (DSBs) forming foci which are co-localized with 53BP1. RAD18 associates with 53BP1 and is recruited at DSB sites in a 53BP1-dependent manner specifically during G1-phase. RAD18 mono-ubiquitinates 53BP1 at lysine 1268 in vitro. The mono-ubiquitination resistant 53BP1 mutant harboring a substitution at lysine 1268 is not retained efficiently at the chromatin in the vicinity of DSBs. In Rad18-null cells, retention of 53BP1 foci, efficacy of DSB repair and post-irradiation viability are impaired compared with wild-type cells. Taken together, these results suggest that RAD18 promotes 53BP1-mediated DSB repair by enhancing retention of 53BP1, possibly through an interaction between RAD18 and 53BP1 and the mono-ubiquitination of 53BP1.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学

キーワード：分子生物学・核・DNA 二重鎖切断・放射線・修復・ユビキチン・53BP1・Rad18

1. 研究開始当初の背景

p53 結合タンパク質として見出された 53BP1 は、DNA 二重鎖切断 (double strand break:DSB) 部位に速やかに集積し、DNA 損傷チェックポイントに関与することが広く知られている。我々は、53BP1 が、既知の Ku70/Ku80/DNA-PKcs 経路 (4 ページ図の A 経路)、ATM/Artemis 経路 (4 ページ図の B 経路) とは異なる経路で、DNA 二重鎖切断の非相同末端結合修復に関与していることを明らかにした (参考文献 1)。この 53BP1 依存性非相同末端結合修復経路 (4 ページ図の C 経路) は他の 2 経路と異なり、PI-3 キナーゼ (ATM や DNA-PK) によるリン酸化の制御を受けておらず、その制御機構は不明である。

E3 ユビキチンリガーゼである Rad18 は、紫外線による DNA 損傷などが原因で S 期に複製フォークが停止した場合に、損傷を乗り越えて DNA 合成を継続する機構 (損傷乗り越え DNA 合成) に関与することが明らかになっている (参考文献 2)。しかし、DSB に対する細胞の反応において Rad18 が何らかの役割を担っているか否かについては報告がない。最近我々は、細胞への X 線照射後 Rad18 が、53BP1 と同様に核内にフォーカスを形成することを見出した。

2. 研究の目的

本研究は、Rad18 が DNA 二重鎖切断の修復に関与しているか否かを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

細胞 : Rad18 ノックアウトマウス (参考文献 3) から採取したマウス胎児線維芽細胞

(mouse embryonic fibroblast:MEF)、Junjie Chen 博士より供与された 53BP1^{-/-}MEF、HeLa 細胞、U2OS 細胞、ニワトリ DT40 細胞と DT40 細胞を用いて樹立した各種遺伝子欠損細胞を使用した。

細胞周期の同調 : HeLa 細胞はダブルチミジン法で G1/S 境界に同調した。DT40 細胞は、8 時間の Nocodazole 処理と、その後の 8 時間の Mimosine 処理で G1 期に同調した (参考文献 1)。

Fluorescence recovery after photo

-bleaching (FRAP) : Leica TCS DMIRE2

confocal laser-scanning microscope を使用した。GFP を融合したマウス 53BP1 (GFP-53BP1) を発現させた細胞を Bleomycin 処理し、GFP-53BP1 フォーカスを形成させた後に、488-nm argon laser 100% power で蛍光を消失させた。その後の蛍光の回復を laser 15%

power で 15 秒ごとに計測した。

4. 研究成果

(1) Rad18 は、細胞への X 線照射に反応して DSB 部位に集積しフォーカスを形成する。

Rad18 は核内に均一に分布する蛋白質であるが、細胞に UV 照射した場合、比較的小さなフォーカスを形成した。このフォーカスはこれまでの報告どおり PCNA のフォーカスと局在が一致した。一方、細胞に X 線照射を行った場合にも Rad18 は速やかに局在を変えてフォーカスを形成することが明らかになった。この X 線照射後の Rad18 フォーカスは、UV 照射後に形成されるフォーカスよりも大きく、また PCNA とも共局在しなかった。したがって、UV 照射後に出現するフォーカスとは性質が異なっていると考えられた。

X 線照射によって細胞には DSB が発生することが知られている。また DSB 部位では、ヒストン H2AX がリン酸化される (リン酸化された H2AX を γ -H2AX とよぶ) こと、さらに γ -H2AX の形成後 DSB 部位には、Nbs1、BRCA1、53BP1 といった細胞周期チェックポイントや DSB 修復に関わる蛋白質が集積してきて、それぞれフォーカスを形成することが明らかになっている。そこで、X 線照射後の Rad18 フォーカスが、 γ -H2AX、Nbs1、BRCA1、53BP1 のフォーカスと共局在するかどうかを調べたところ、いずれの蛋白質のフォーカスとも共局在を示した。Rad18 のフォーカスは、細胞への X 線照射 15 分後には出現し、30 分後に細胞あたり最も多い数となり、その後時間とともに消退していった。また X 線と同様に DSB を発生させる Bleomycin などの薬剤処理でも Rad18 のフォーカスが形成されることが確認された。以上より、細胞への X 線照射後、Rad18 は DSB 部位に集積しフォーカスを形成することが明らかになった。

(2) X 線による Rad18 のフォーカス形成は G1 期細胞においてのみ 53BP1 依存性である。

Rad18 がどのような機序でフォーカスを形成するのかを明らかにするために、ATM、Nbs1、BRCA1 欠損細胞、あるいは siRNA で 53BP1 の発現を抑制した細胞での Rad18 フォーカス形成を調べた。その結果、53BP1 に対する siRNA を用いた細胞において、Rad18 のフォーカス形成細胞の比率が減少した。しかし 90%以上の細胞で 53BP1 の発現抑制が認められるにも関わらず、細胞によっては Rad18 のフォーカス形成がみられた。

Rad18 フォーカス形成において、細胞によって 53BP1 に対する依存性が異なるのは、細胞が X 線照射を受けた時の細胞周期の違いに

よるのではないかと考え、ダブルチミジン法で細胞周期を同調させた後に細胞に X 線照射を行い、Rad18 のフォーカス形成を調べた。その結果、X 線による Rad18 のフォーカス形成は、G1 期細胞においてのみ 53BP1 依存性であることが明らかになった。

(3) Rad18 は、53BP1 と直接結合することにより DNA 二重鎖切断部位に集積する。

G1 期細胞において Rad18 のフォーカス形成が 53BP1 依存性であることから、53BP1 と Rad18 が複合体を形成するか否かを調べた。53BP1 と Rad18 は、細胞への X 線照射前には免疫沈降法で共沈しなかったが、X 線照射後共沈した。リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* での結合実験から、53BP1 と Rad18 は直接結合することが明らかになった。

Rad18 と結合する 53BP1 の領域は、53BP1 がフォーカスを形成するのに必要である最小領域を含む KBD ドメイン (1235-1616 残基) であった。一方、53BP1 と結合する Rad18 の領域は、Rad18 の Zinc finger ドメインであった。Zinc finger ドメインを欠損した Rad18、あるいは Zinc finger ドメインに含まれる 207 番目残基をシステインからフェニルアラニンに変えた変異型 Rad18 (Rad18C207F) は、*in vitro* での 53BP1 との結合能力を失うと同時に、*in vivo* での、X 線によるフォーカス形成能力を失った。以上より、Rad18 は 53BP1 との直接結合を介して DNA 二重鎖切断部位に集積し、フォーカスを形成することが明らかになった。

(4) Rad18 は、53BP1 をモノユビキチン化する。

Rad18 が E3 ユビキチンリガーゼ活性をもっていることから、Rad18 が 53BP1 をユビキチン化するか否かを調べた。リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* 実験で、Rad18 は対応する E2 ユビキチン結合酵素である Rad6 依存性に 53BP1KBD ドメインをモノユビキチン化した。この *in vitro* での 53BP1 のモノユビキチン化は、53BP1 と結合できない変異型 Rad18、および Rad18C207F、ではみられなかった。

ユビキチン化される KBD ドメイン内の残基として、1268 番目と 1516 番目のリジン残基が候補として考えられた。そこで、それぞれのリジン残基をアルギニン残基に変えた (K1268R、および K1516R) リコンビナント KBD ドメインを用いて *in vitro* モノユビキチン化反応を行ったところ、K1268R の変異をもった KBD ドメインのモノユビキチン化が (完全に消失はしないものの) 顕著に低下した。以上より Rad18 は、53BP1 との結合依存性に 53BP1 の 1268 番目リジン残基をモノユビキチン化することが明らかになった。

(5) G1 期細胞の X 線感受性において 53BP1 と Rad18 はエピスタティックである。

53BP1 を含めて、その産物が DSB の非相同末端結合修復に関与する遺伝子の欠損細胞は、G1 から early S 期に X 線に対して高感受性を示すことが知られている。また DT40 細胞を用いて作製した 53BP1 遺伝子欠損細胞 (53BP1^{-/-}DT40 細胞) の解析から、53BP1 が既知の Ku70/Ku80/DNA-PKcs 経路、ATM/Artemis 経路とは異なる、53BP1 依存性の非相同末端結合修復経路を構成していることが明らかになっている (参考文献 1)。そこで、Rad18^{-/-}DT40 細胞を作製し、細胞周期ごとの X 線に対する感受性をコロニーアッセイで調べた。Rad18^{-/-}DT40 細胞は、53BP1^{-/-}DT40 細胞より軽度ではあるが、G1 期に高い X 線感受性を示した。また、53BP1 と Rad18 の両遺伝子を欠損させた DT40 細胞 (53BP1^{-/-}Rad18^{-/-}DT40 細胞) を作製し、53BP1^{-/-}DT40 細胞、Rad18^{-/-}DT40 細胞それぞれとの、G1 期での X 線感受性を比較したところ、53BP1^{-/-}Rad18^{-/-}DT40 細胞の X 線感受性は、53BP1^{-/-}DT40 細胞のそれと同一であった。以上より 53BP1 と Rad18 は、G1 期細胞の X 線感受性においてエピスタティックであり、同一の修復経路で機能している可能性が示唆された。

(6) Rad18 は、G1 期細胞の DNA 二重鎖切断修復に関与する。

Rad18 が G1 期細胞での DSB 修復に関与しているか否かを明らかにするために、接触阻害で G0-G1 期に停止させた MEF に X 線照射を行い、G0-G1 期に停止した状態での DSB の消失速度を調べた。γ-H2AX のフォーカス数を DSB 数の指標として用いた。野性型 MEF に比べて、53BP1^{-/-}MEF、あるいは Rad18^{-/-}MEF では DSB の消失速度が低下した。X 線照射 24 時間後において、野性型 MEF では約 10 個の DSB が残っていたが、53BP1^{-/-}MEF、Rad18^{-/-}MEF ではいずれにおいても約 19 個の DSB が残っていた。さらに、Rad18^{-/-}MEF に野性型 Rad18 を発現させると、24 時間後の残存 DSB 数が減少したが、Rad18C207F を発現させても 24 時間後の残存 DSB 数は減少しなかった。また 53BP1^{-/-}MEF に野性型 53BP1 を発現させると、24 時間後の残存 DSB 数が減少したが、53BP1 K1268R (実際の実験では、対応する変異を加えたマウス 53BP1 を使用している) を発現させても 24 時間後の残存 DSB 数は減少しなかった。以上より、53BP1 および Rad18 は、G0-G1 期細胞に発生した DSB の修復に関与していること、この Rad18 による DSB 修復の亢進には 53BP1 と Rad18 の結合が必要であること、さらに 53BP1 による DSB 修復の亢進には Rad18 による 53BP1 のモノユビキチン化が必要であることが明らかになった。

DT40 細胞を用いた遺伝学的解析から、G1 期細胞の X 線感受性において 53BP1 は、Rad18 とはエピスタティックであるが、DNA-PK とは非エピスタティックであることが明らかになっている (参考文献 1)。そこで、G0-G1 期 MEF 細胞の X 線感受性において、Rad18 と DNA-PK が非エピスタティックであるか否かを確認するために、G0-G1 期に停止させた細胞に X 線照射を行いその細胞を用いてコロニーアッセイを行った。Rad18^{-/-}MEF、DNA-PK 阻害剤処理した野生型 MEF とともに野生型 MEF に比べて X 線感受性が亢進したが、DNA-PK 阻害剤処理した Rad18^{-/-}MEF ではさらに X 線感受性が亢進した。また Rad18C207F、あるいは Rad18DR6 (Rad6 との結合能を欠き E3 リガーゼ活性を發揮できない変異型 Rad18) を発現させた Rad18^{-/-}MEF を DNA-PK 阻害剤処理した場合の X 線感受性は、DNA-PK 阻害剤処理した Rad18^{-/-}MEF のそれと同程度であった。以上より、MEF においても Rad18 は、Ku70/Ku80/DNA-PKcs の関与する非相同末端結合修復経路とは異なる経路で DSB の修復に参与していることが示唆された。さらに、Rad18 による DSB 修復機能には、Rad18 の Zinc finger ドメインとユビキチンリガーゼ活性が必要であることが明らかになった。

(7) Rad18 は、X 線照射により形成される 53BP1 フォーカスを安定化する。

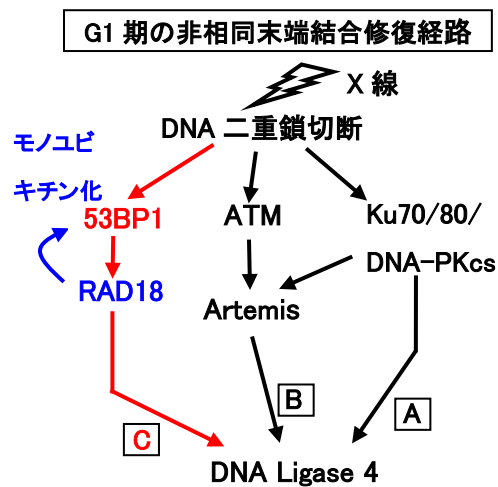
53BP1 フォーカスの性質を調べている過程で、Rad18 が 53BP1 フォーカスを安定化することを見出した。X 線照射後の野生型マウス細胞を 300 mM NaCl を含んだ細胞抽出液で処理しても 53BP1 フォーカス陽性細胞の比率は減少しなかった。一方、Rad18^{-/-}マウス細胞、あるいは siRNA で Rad6 の発現を抑制したヒト癌細胞株を用いて同じ実験を行ったところ、53BP1 フォーカス陽性細胞率が減少した。53BP1 フォーカス陽性細胞率は、Rad18^{-/-}マウス細胞に野生型 Rad18 を発現させると回復したが、Rad18C207F、あるいは Rad18DR6 を発現させても回復しなかった。また GFP を融合したマウス 53BP1 (GFP-野生型 53BP1) および GFP-53BP1 K1268R (実際の実験では、対応する変異を加えたマウス 53BP1 を使用している) を用いて、53BP1 フォーカス陽性細胞率を調べたところ、野生型マウス細胞に GFP-野生型 53BP1 を発現させた場合 (約 35%) に比べて、GFP-53BP1 K1268R を発現させた場合 (約 18%)、約 1/2 に減少した。一方、Rad18^{-/-}マウス細胞を用いて同じ実験を行うと、GFP-野生型 53BP1 (約 17%) あるいは GFP-53BP1 K1268R (約 19%)、いずれを発現させた場合でもそのフォーカス陽性細胞率は、野生型マウス細胞に GFP-53BP1 K1268R を発現させた場合 (約 18%) と同程度であった。以上より、Rad18 は、53BP1 のモノユビキチン化を介し

て 53BP1 のフォーカスを安定化させる可能性が示唆された。

さらに Photo-bleaching (FRAP) 法を用いて 53BP1 の可動性を調べた。GFP-野生型 53BP1 を野生型マウス細胞、あるいは Rad18^{-/-}マウス細胞に発現させた後、X 線照射により 53BP1 フォーカスを形成させた。続いて 53BP1 フォーカスの蛍光を強力なレーザー光で消失させ、その後の GFP-野生型 53BP1 の DSB 部位への集積を観察した。消失前の 53BP1 フォーカスの蛍光強度を 100%とした場合、野生型マウス細胞では蛍光強度が 28%、Rad18^{-/-}マウス細胞では 42%回復した。従って、Rad18^{-/-}マウス細胞では、不動性の GFP-野生型 53BP1 が減少していることが示唆された。さらに、蛍光の回復率を算出したところ、Rad18^{-/-}マウス細胞では、野生型マウス細胞の場合の約 1.9 倍であり、Rad18^{-/-}マウス細胞では 53BP1 の可動性が亢進していることが示唆された。さらにヒト癌細胞株に GFP-野生型 53BP1 あるいは GFP-53BP1 K1268R を発現させて FRAP 実験を行ったところ、GFP-53BP1 K1268R の蛍光の回復率は GFP-野生型 53BP1 のその約 1.6 倍であった。以上より Rad18 は、53BP1 のモノユビキチン化を介して 53BP1 の可動性を減少させていることが示唆された。

(8) まとめ

我々は以下のようなモデルを提唱する。
 1) G0-G1 期細胞において Rad18 は、53BP1-KBD ドメインとの直接結合を介して DSB 部位に集積し、フォーカスを形成する。
 2) Rad18 は DSB 部位で 53BP1 の K1268 をモノユビキチン化する。
 3) モノユビキチン化された 53BP1 は可動性が減少し、DSB 部位でのクロマチンとの結合がより強固となる。
 4) Rad18 は、53BP1 依存性経路で DSB の非相同末端結合修復に参与している。



Rad18 が 53BP1 と協調して機能するのが、なぜ G0-G1 期だけなのか、またモノユビキチ

ン化された 53BP1 がどのような機序でクロマチンとの結合を強固にするかについては今後の課題である。

(9) 参考文献

1. Iwabuchi K, Hashimoto M, Matsui T, Kurihara T, Shimizu H, Adachi N, Ishiai M, Yamamoto K, Tauchi H, Takata M, Koyama H, Date T : 53BP1 contributes to survival of cells irradiated with X-ray during G1 without Ku70 or Artemis. *Genes Cells*, 11, 935-948, 2006.
2. Watanabe K, Tateishi S, Kawasuji M, Tsurimoto T, Inoue H, Yamaizumi M : Rad18 guides pol ζ to replication stalling sites through physical interaction and PCNA monoubiquitination. *EMBO J.*, 23, 3886-3896, 2004.
3. Tateishi S, Niwa H, Miyazaki J, Fujimoto S, Inoue H, Yamaizumi M : Enhanced genomic instability and defective postreplication repair in RAD18 knockout mouse embryonic stem cells. *Mol. Cell Biol.*, 23, 474-481, 2003.

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 5 件)

- ① Watanabe K, Iwabuchi K, Sun J, Tsuji Y, Tani T, Tokunaga K, Date T, Hashimoto M, Yamaizumi M, Tateishi S : RAD18 promotes DNA double-strand break repair during G1 phase through chromatin retention of 53BP1, **Nucleic Acids Res.**, 37, 2176-2193, 2009. 査読有
- ② Iwabuchi K, Matsui T, Hashimoto M, Matsumoto Y, Kurihara T, Date T : Characterization of a cancer cell line that expresses a splicing variant form of 53BP1: Separation of checkpoint and repair functions in 53BP1, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 376, 509-513, 2008. 査読有
- ③ Iwabuchi K, Hashimoto M, Matsui T, Kurosawa A, Adachi N, Date T : Cell sorting analysis of cell cycle-dependent X-ray sensitivity in end joining-deficient human cells, **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 372, 662-667, 2008. 査読有
- ④ Hashimoto M, Matsui T, Iwabuchi K, Date T : PKU- β /TLK1 regulates myosin II activities, and is required for accurate equaled chromosome segregation, **Mutat.**

Res., 657, 63-67, 2008. 査読無

- ⑤ Kobayashi J, Iwabuchi K, Miyagawa K, Sonoda E, Suzuki K, Takata M, Tauchi H : Current topics in DNA double-strand break repair, **J. Radiat. Res.**, 49, 93-103, 2008. 査読有

[学会発表] (計 20 件)

- ① 佐々木琢磨, 若杉光生, 蘭上圭子, 猪部学, 岩淵邦芳, 松永 司: ヒトG0細胞期におけるヌクレオチド除去修復に伴うATRとATMの活性化, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, (神戸, 2010.12.09), プログラム, 340, 2010.
- ② 橋本光正, 松井 理, 橋本優実, 高田尊信, 石垣靖人, 友杉直久, 岩淵邦芳: X線の線量依存的にリン酸化される新規タンパク質プレクチンの機能解析, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, (神戸, 2010.12.09), プログラム, 340, 2010.
- ③ 松井 理, 橋本光正, 橋本優実, 高田尊信, 土田秀行, 石垣靖人, 友杉直久, 岩淵邦芳: 53BP1に結合するタンパク質の解析, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, (神戸, 2010.12.09), プログラム, 341, 2010.
- ④ 橋本優実, 松井 理, 橋本光正, 岩淵邦芳: アポトーシス誘導時に生じるDNA二本鎖切断の修復抑制機構の解明, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, (神戸, 2010.12.09), プログラム, 340, 2010.
- ⑤ Saito S, Matsui T, Kurosawa A, Iwabuchi K, Adachi N: Functional analysis of human 53BP1, 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会, (神戸, 2010.12.09), プログラム, 341, 2010.
- ⑥ 橋本優実, 松井 理, 橋本光正, 岩淵邦芳: DNA損傷修復タンパク質 53BP1 のアポトーシス誘導における働き, 日本放射線影響学会第53回大会, (京都, 2010.10.22), 講演要旨集, 97, 2010.
- ⑦ 若杉光生, 佐々木琢磨, 猪部学, 岩淵邦芳, 松永 司: 紫外線照射されたG0期細胞におけるヌクレオチド除去修復に依存した二次的DNA損傷の生成, 日本放射線影響学会第53回大会, (京都, 2010.10.21), 講演要旨集, 93, 2010.

⑧ 橋本光正, 松井 理, 橋本優実, 高田尊信, 石垣靖人, 友杉直久, 岩淵邦芳: X線の線量依存的にリン酸化される新規タンパク質の探索, 日本放射線影響学会第 53 回大会, (京都, 2010. 10. 20), 講演要旨集, 130, 2010.

⑨ 橋本光正, 松井 理, 高田尊信, 友杉直久, 石垣靖人, 岩淵邦芳: DNA二本鎖切断損傷に応答する蛋白質群の解析, 第 32 回日本分子生物学会年会, (横浜, 2009. 12. 11), 第 32 回日本分子生物学会年会 MBSJ2009 プログラム, 351, 2009.

⑩ 松井 理, 橋本光正, 岩淵邦芳: 53BP1 BRCT ドメインに結合する蛋白質の解析, 第 32 回日本分子生物学会年会, (横浜, 2009. 12. 10), 第 32 回日本分子生物学会年会 MBSJ2009 プログラム, 245, 2009.

⑪ 立石 智, 岩淵邦芳, 渡辺健司: Rad18 は、53BP1 をモノユビキチン化することにより、G1 期でのDNA2 重鎖切断損傷の修復を促進する, 日本放射線影響学会 第 52 回大会, (広島, 2009. 11. 12), 日本放射線影響学会 第 52 回大会 講演要旨集, 81, 2009.

⑫ 橋本光正, 松井 理, 高田尊信, 友杉直久, 石垣靖人, 岩淵邦芳: 電離放射線によって誘発されるDNA修復酵素群の 2 次元電気泳動を用いた解析, 日本放射線影響学会 第 52 回大会, (広島, 2009. 11. 12), 日本放射線影響学会 第 52 回大会 講演要旨集, 115, 2009.

⑬ 松井 理, 橋本光正, 岩淵邦芳: 53BP1 BRCTドメインに結合する蛋白質の検索・同定, 日本放射線影響学会 第 52 回大会, (広島, 2009. 11. 12), 日本放射線影響学会 第 52 回大会 講演要旨集, 136, 2009.

⑭ Hashimoto M, Matsui T, Kurosawa A, Adachi N, Date T, Iwabuchi K: Cell sorting analysis of cell cycle-dependent X-ray sensitivity in non-homologous end joining-deficient human cells, 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, (神戸, 2008. 12. 10), 講演要旨集, 417, 2008.

⑮ 内海博司, 岩淵邦芳, 高橋昭久, 立花章: 低線量率照射におけるNHEJ修復系の重要性について, 日本放射線影響学会第 51 回大会, (北九州, 2008. 11. 21), 日本放射線影響学会第 51 回大会 講演要旨集, 79, 2008.

⑯ 橋本光正, 松井 理, 黒沢 綾, 足立典隆, 伊達孝保, 岩淵邦芳: セルソーターを用

いた新しい細胞周期同調法の開発と、非相同末端結合修復の研究, 日本放射線影響学会第 51 回大会, (北九州, 2008. 11. 20), 日本放射線影響学会第 51 回大会 講演要旨集, 97, 2008.

⑰ 岩淵邦芳, 橋本光正, 松井 理, 渡邊健司, 立石 智, 伊達孝保: X線誘発DNA損傷に対する 53BP1 依存性修復経路, 日本放射線影響学会第 51 回大会, (北九州, 2008. 11. 19), 日本放射線影響学会第 51 回大会 講演要旨集, 64, 2008.

⑱ 渡邊健司, 岩淵邦芳, 立石 智: DNA二重鎖切断部位でのRad18 の集積とその役割の解明, 日本放射線影響学会第 51 回大会, (北九州, 2008. 11. 19), 日本放射線影響学会第 51 回大会 講演要旨集, 99, 2008.

⑲ 岩淵邦芳, 松井 理, 伊達孝保: Cell-line that expresses splicing variant forms of 53BP1: separation of checkpoint and repair functions in 53BP1/ スプライシングバリエントを発現する癌細胞株のDNA二重鎖切断修復能, 第 67 回日本癌学会学術総会, (名古屋, 2008. 10. 28), 第 67 回日本癌学会学術総会プログラム, 159, 2008.

⑳ Iwabuchi K, Hashimoto M, Matsui T, Date T: Identification of a cancer cell-line that expresses a splicing variant form of 53BP1: separation of checkpoint and repair functions in 53BP1, The International Ataxia-Telangiectasia Workshop2008, (Otsu, 2008. 04. 25), Ataxia-Telangiectasia Workshop2008 Abstracts, 141, 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩淵 邦芳 (IWABUCHI KUNIYOSHI)
金沢医科大学・医学部・教授
研究者番号: 10232696

(2) 研究分担者

橋本 光正 (HASHIMOTO MITSUMASA)
金沢医科大学・医学部・助教
研究者番号: 70293975

(3) 研究分担者

渡邊 健司 (WATANABE KENJI)
熊本大学・発生医学研究センター・助教
研究者番号: 80404333
(H20 年度のみ)