

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21510056

研究課題名（和文）：酸化塩基損傷を認識する修復酵素の同定と放射線や活性酸素に対する
防御機能の解析研究課題名（英文）：Identification and characterization of biological functions of
DNA repair enzymes that recognize oxidative base damage

研究代表者：

秋山（張） 秋梅（ZHANG-AKIYAMA QIU-MEI）

京都大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：00260604

研究成果の概要（和文）：

線虫 *C. elegans* の塩基除去修復に関与する酵素（Nth, APN-1, EXO-3）、酸化ヌクレオチド分解酵素（NDX-1, NDX-2, NDX-4）、ミスマッチ修復酵素（MSH2, MSH6, MLH1, PMS2）と OXR1 タンパク質の同定と精製・純化に成功し、その酵素活性を解析するとともにそれらの欠損変異株の性質から酸化ストレスでの防御的機能を明らかにした。さらに、ホヤの Nth, AP エンドヌクレアーゼの構造・機能を解析した。

研究成果の概要（英文）：

We first identified three kinds of base excision repair enzymes (Nth, APN-1 and EXO-3), pyrophosphatases for oxidized deoxyribonucleotides (NDX-1, NDX-2 and NDX-4), mismatch repair enzymes (MSH2, MSH6, MLH1 and PMS2) and OXR1 protein in the nematode *C. elegans*. Furthermore, the present study revealed critical roles of these proteins in prevention against oxidative stress using deficient mutant or RNAi knockdown worms. In addition, we also identified some DNA repair enzymes in the ascidian *Ciona intestinalis*.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
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：放射線、活性酸素、塩基損傷、DNA 修復、突然変異

1. 研究開始当初の背景

放射線や活性酸素は、thymine glycol (Tg), 8-oxoguanine (8-oxoG), 5-formyluracil (5-foU) などの多様な塩基酸化体を生じ、それらが細胞死、突然変異や発癌を起こす原因になると考えられている。塩基の酸化的損傷は主に塩基除去修復 (BER) によって修復される。BER では、損傷塩基を DNA から除去する DNA

glycosylase, 生じた AP 部位で DNA 鎖を切断する AP endonuclease (あるいは AP lyase) が順序よく働く。塩基損傷の修復は、突然変異だけでなく細胞のがん化の抑制にも関連している。しかし、BER の研究では、生成する塩基酸化体の構造、更なる酸化による新規化合物への変化、DNA glycosylase の基質や細胞内での機能、そのネットワーク（統合されたバ

ックアップ) 体制など、まだ十分に解明されていない課題も多く残ったままである。AP endonuclease や Pol- β の欠損は致死的であるが、DNA glycosylase を単独で欠損した個体や細胞が致死的になるとか、高い突然変異を示すような形質は観察されていない。申請者は、DNA glycosylase は幅広い基質 (酸化塩基損傷) 特異性をもつか、同じ酸化塩基を認識する複数のバックアップ酵素が存在すると考えている。そのために、まず未発見の DNA glycosylase を同定することが重要である。その上で、一つの特定の種類の塩基損傷を修復する全ての DNA glycosylase を欠損させた細胞を作成し、自然あるいは酸化ストレスを付与した状態での影響を解明することが重要である。申請者は、すでに大腸菌、ホヤ、線虫 (*C. elegans*) で、これまでに同定されている DNA glycosylase とは異なる数種類の DNA glycosylase 活性をもつタンパク質を見出している。これらの酵素の構造と機能、発現の制御や欠損の影響を明らかにするとともに、ヒト細胞でのホモログの検索を行うことが今、重要である。

2. 研究の目的

- (1) DNA 修復酵素の同定: 次の3種類の手法を用いて塩基除去修復 (BER) に関わる新規のタンパク質を同定する。① crude extract を調整し、目的の損傷塩基を持つ oligonucleotide に特異的に結合あるいは切断するタンパク質を検索する。② 大腸菌の glycosylase 欠損株の自然突然変異を相補するクローンを c-DNA ライブラリーから検索する。③ すでに公表されているデータベースを活用し、DNA glycosylase のアミノ酸配列を入力してそのホモログを検索する。著者らは、これらの手法を用いて、大腸菌の KsgA (rRNA methyltransferase)、*C. elegans* の b-NAC やホヤの Ogg1 (8-oxoguanine DNA glycosylase) および P0 タンパク質が DNA glycosylase あるいは AP endonuclease の機能を持つことを見いだしている。本研究では、さらに、新たな酵素の発見とともに、それらのタンパク質を精製し、その基質特異性、活性ドメインや生物学的機能を明らかにする。また、申請者らは Oxr1 という新たな酸化ストレス防御タンパク質を同定しており、この機能の解明を行う。
- (2) DNA glycosylase の活性と突然変異抑制の機能の関連: 上記の DNA glycosylase を欠損する細胞を分離、あるいは、RNAi などの方法で遺伝子発現を抑制した細胞を分離して、それらの細胞の突然変異頻度や放射線、活性酸素に対する感受性などの性質を解析する。これらの酵素が高発現している細胞を分離し、突然変異への影響とともに放射線感受性などへの影響を解析する。
- (3) 生物の胚発生や aging と塩基の酸化

生物の胚発生や aging において塩基の酸化は不断に起こり、それらは BER によって防御されていることについて明らかにする。そのために、*C. elegans* を扱った研究を実施する。

3. 研究の方法

- (1) 大腸菌, *C. elegans* および培養ヒト細胞から extract を調整し、化学合成した二重鎖 oligonucleotide に対する酵素活性を測定する。活性が検出できれば FPLC を用いてタンパク質を精製する。次に、nicking assay によってそれらの酵素の基質特異性を検討する。さらに、新規の塩基損傷を含む基質を化学合成する。ヒト細胞から調製した抽出液からも、trapping 法で AP lyase 活性を内在する DNA glycosylase を同定する。これらのタンパク質を精製し、アミノ酸配列の解析によって目的タンパク質を同定する。
- (2) 次の手法を用いて、*C. elegans* の DNA glycosylase の同定を行う。① *C. elegans* の cDNA library を検索し、Ogg1, Nth, Nei などのホモログを検索。候補クローンを大腸菌 *mutM nth nei* 株で高発現させ、タンパク質を精製、その性質を調べる。② cDNA library を大腸菌 *mutM mutY, mutM nth nei, xth nfo* 変異株に導入。これらの変異株の自然突然変異を相補するクローンを選択する。このタンパク質を精製、DNA glycosylase の活性を詳しく検討する。③ extract での trapping, gel shift, DNA nicking などの手法を用いて基質となる塩基損傷を解析する。さらに、RNAi 法で実際に *C. elegans* の発生の初期段階から観察を始め、胚発生、個体発生への影響を観察する。
- (3) 本研究で同定した修復遺伝子の突然変異抑制の機能: 同定した各種の cDNA を大腸菌の DNA 修復欠損株 (例: GC \rightarrow TA トランスポージョンを検出できる株の *mutM, nth, nei, mutY* とそれらの二重、三重変異株) に導入。どのような型の突然変異が相補されるのかを調べる。
- (4) *C. elegans* を用いて、mutation, RNAi, それら二重欠損株を作成して自然および酸化ストレス状態、高酸素濃度、放射線照射、H₂O₂ 処理での発生、aging に与える影響を調べる。さらに、放射線応答、感受性、高酸素条件下での細胞増殖、酸化ストレス、MMS などへの応答変化を検討する。
- (5) Oxr1 タンパク質の同定: 酵母、ヒト細胞の Oxr1 タンパク質の精製と生化学的活性の解析および細胞内での動態、機能の解析を行う。さらに、*C. elegans* のホモログを同定する。

4. 研究成果

- (1) *C. elegans* は多細胞生物であるが、体細胞数はほかの生物と比較して少なく、また成虫まで成長すればその後は細胞分裂を停止す

る。これらの特徴から *C. elegans* はその生涯で行う細胞分裂の回数は非常に少なく、ゲノム複製に伴う誤対合の影響がほかのモデル生物と比較して小さく、damage response の解析に有用である。*C. elegans* は MMR ホモログとして MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 の4つをもっている。これらの遺伝子が欠損することにより自然突然変異の頻度が増大することが示されており、これらが MMR の経路で何らかの役割を果たしている可能性が高い。それぞれの遺伝子の欠損株を入手し、様々な mutagen に対する感受性を調べた。これまでの培養細胞の知見から MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 の4つは常にセットで働いていると考えられたが、与える損傷の種類やその程度によって感受性が変化することから4つの酵素で行われる経路以外にも、別の経路が存在することが示唆された。さらに寿命の測定から、それらの経路が老化に影響を及ぼしていることが分かった。

(2) AP サイト (脱塩基部位) は塩基除去修復経路の過程で生じるだけでなく、自然に起こる脱プリン反応によっても断続的に生じている。DNA 複製の障害となるほか、分裂しない細胞でも転写の障害となり、細胞の生存に悪影響を及ぼす。AP エンドヌクレアーゼはそのような AP サイトを認識し、3'末端が適切な形になるように DNA を切断する。カタユレイボヤにおける AP エンドヌクレアーゼ (CiAPE) の機能を解明するため、CiAPE の発現 in situ で同定した。次に *xth nfo* 欠損大腸菌に CiAPE 発現ベクターを導入し、DNA アルキル化剤 MMS および過酸化水素に対して抵抗性が回復することを発見した。また、dominant negative 法を用いて、CiAPE 導入ホヤ株の発生阻害を起こす様子を観察できた。

(3) 線虫の塩基除去修復欠損株 *ung* (uracil DNA glycosylase), *nth* (endonuclease I), *exo-3* (exonuclease III) の二重、三重欠損株を作成し、それらの遺伝子欠損と成長、発生、産卵数、酸化ストレス感受性について調べた。また、Apn-1 (AP endonuclease 1) は細胞核中に存在していることを Apn-1::GFP 導入株と抗体による免疫染色法で確認した。Exo-3 欠損によって産卵数の減少、そして寿命延長を観察できた。このことは生涯生育数と寿命との影響について線虫でも確認出来た。

(4) 線虫 Ndx-1 は 8-oxo-dGDP を分解する活性を持ち、RNAi 阻害線虫は酸化ストレスに高感受性を示した。

(5) ホヤ Nth 遺伝子を同定した。その N-末端がタンパク質活性に特に重要であることを明らかにした。

(6) ヒト細胞の Oxr1 タンパク質は細胞質に存在しており、酵母欠損株は突然変異率が高くなることを発見した。さらに、*C. elegans* のホモログの同定に成功した。

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 12 件)

(1) Kato, S., K. Hashiguchi, K. Igarashi, T. Moriwaki, S-I. Yonekura and Q-M. Zhang-Akiyama (2012) Structural and functional properties of CiNTH, an endonuclease III homologue of the ascidian *Ciona intestinalis*: critical role of N-terminal region. *Genes Genet. Systems*, (査読有), 87, in press.

(2) Hosoki, A., S. Yonekura, Q-L. Zhao, Z-L. Wei, I. Takasaki, Y. Tabuchi, L-L. Wang, S. Hasuike, T. Nomura, A. Tachibana, K. Hashiguchi, S. Yonei, T. Kondo and Q-M. Zhang-Akiyama (2012) Mitochondria-targeted superoxide dismutase (SOD2) regulates radiation resistance and radiation stress response in HeLa cells. *J. Radiat. Res.*, (査読有), 53, 58-71. DOI: 10.1269/jrr.11034

(3) 細木彩夏, 吉川幸宏, 橋口一成, 秋山(張)秋梅 (2012) ミトコンドリアにおける酸化ストレス防御と生じた損傷の修復. 放射線生物研究, (査読有), 47, 第2号, 印刷中. URL: <http://naramed-u.ac.jp/~oncra/rbrc/pub.htm>

(4) Sanada, U, S. Yonekura, M. Kikuchi, K. Hashiguchi, N. Nakamura, S. Yonei and Q-M. Zhang-Akiyama (2011) NDX-1 protein hydrolyzes 8-oxo-7,8-dihydrodeoxy-guanosine-5'-diphosphate to sanitize oxidized nucleotides and prevent oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *J. Biochem.* (査読有), 150, 649-657. DOI:10.1093/jb/mvr107

(5) Yonekura, S., U Sanada and Q-M. Zhang-Akiyama (2010) CiMutT, an asidian MutT homologue, has a 7, 8-dihydro-8-oxo-dGTP pyrophosphohydrolase activity responsible for sanitization of oxidized nucleotides in *Ciona intestinalis*. *Genes Genet. Systems*, (査読有), 85, 287-295. URL: <http://dx.doi.org/10.1266/ggs.85.287>

(6) Hori, M., S. Yonekura, T. Nohmi, P. Gruz, H. Sugiyama, S. Yonei and Q-M. Zhang-Akiyama (2010) Error-prone translesion DNA synthesis by *Escherichia coli* DNA polymerase IV (DinB) on templates containing 1,2-dihydro-2-oxoadenine. *J. Nucleic Acids.*, (査読有), Article 807579, 10 page. DOI:10.4061/2010/807579,

(7) 眞田悠生, 加藤悠一, 森脇隆仁, 橋口一成, 秋山(張)秋梅 (2010) 線虫 *C. elegans* における酸化 DNA の修復. 放射線生物研究, (査読無), 45, 286-302. URL: <http://www.naramed-u.ac.jp/~oncra/rbrc/pub/45-3index.pdf>

(8) Morinaga, H., S. Yonekura, N. Nakamura, H. Sugiyama, S. Yonei and Q-M. Zhang-Akiyama

(2009) Purification and characterization of *Caenorhabditis elegans* NTH, a homolog of human endonuclease III: essential role of N-terminal region. *DNA Repair*, (査読有), 8, 844-851.

URL:<http://dx.doi.org/10.1016/j.dnarep.2009.04.020>

(9) Zhang-Akiyama, Q-M., H. Morinaga, M. Kikuchi, S. Yonekura, H. Sugiyama, K. Yamamoto and S. Yonei (2009) KsgA, a 16S rRNA adenine methyltransferase, has a novel DNA glycosylase/AP lyase activity to prevent mutations in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res.*, (査読有), 37, 2116-2125.

DOI: 10.1093/nar/gkp057

(10) Hashiguchi, K. and Q-M. Zhang-Akiyama (2009) Establishment of human cell lines lacking mitochondrial DNA. In *Methods in Molecular Biology. Mitochondria DNA: Methods and Protocols*, 2nd Edition (Stuart JA, ed), Humana Press (New Jersey), page 383-391. (査読無)

DOI: 10.1007/978-1-59745-521-3_23

(11) Yonekura, S., N. Nakamura, S. Yonei and Q-M. Zhang-Akiyama (2009) Generation, biological consequences and repair mechanisms of cytosine deamination in DNA. *J. Radiat. Res.*, (査読有), 50, 19-26.

URL: <http://dx.doi.org/10.1269/jrr.08080>

(12) Takao, M., Y. Oohata, K. Kitadokoro, K. Kobayashi, S. Iwai, A. Yasui, S. Yonei and Q-M. Zhang (2009) Human Nei-like protein NEIL3 has AP lyase activity specific for single-stranded DNA and confers oxidative stress resistance in *Escherichia coli* mutant. *Genes to Cells*, (査読有), 14, 261-270.

DOI: 10.1111/j.1365-2443.2008.01271.x

〔学会発表〕(計 52 件)

(1) Zhang-Akiyama, Q-M., A. Hosoki, S-I. Yonekura and K. Hashiguchi. Modulation of radiation response by mitochondria-targeted SOD2 and glutaredoxin 2 in human cells. The Sugahara Memorial International Symposium. 2012.1.25-26, Kyoto.

(2) 秋山(張)秋梅, 細木彩夏. 放射線誘導酸化ストレスと細胞の防御機構. 宇宙利用シンポジウム第 28 回大会. 2012.1.23-24, 東京.

(3) 眞田悠生, 秋山(張)秋梅. The roles of Nudix hydrolases, NDX-1 and NDX-2, for oxidized purine nucleoside diphosphates in maintenance of genomic stability in *C. elegans*. 日本分子生物学会 34 回大会. 2011.12.12-15, 横浜.

(4) 橋口一成, 秋山(張)秋梅. The N-terminal portion of human OGG1 has an essential role for nucleolar localization. 日本分子生物学会 34 回大会. 2011.12.12-15, 横浜.

(5) 秋山(張)秋梅, 細木彩夏, 橋口一成. ミトコンドリア抗酸化酵素と細胞の放射線への応答. 日本放射線影響学会第 54 回大会. 2011.11.17-19, 神戸.

(6) 細木彩夏, 米倉慎一郎, 橋口一成, 野村崇治, 米井脩治, 近藤隆, 秋山(張)秋梅. 抗酸化酵素による放射線障害抑制の機構と意義. 日本放射線影響学会第 54 回大会, 2011.11.17-19, 神戸.

(7) 秋山(張)秋梅, 加藤悠一, 森脇隆仁. *C. elegans* の塩基除去修復. 日本放射線影響学会第 54 回大会. 2011.10.20-23, 神戸.

(8) 加藤誠嗣, 橋口一成, 米倉慎一郎, 森脇隆仁, 秋山(張)秋梅. カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) 細胞内外におけるエンドヌクレアーゼ (CiNth) の役割. 日本遺伝学会第 82 回大会, 2011.9.20-22, 京都.

(9) 五十嵐健人, 森脇隆仁, 橋口一成, 秋山(張)秋梅. ホヤ Ascidian *Ciona intestinalis* の AP サイト修復に関わる AP endonuclease (CiAPE-1) の同定と機能解析. 日本遺伝学会第 82 回大会. 2011.9.20-22, 京都.

(10) Hosoki, A. K. Hashiguchi, S-I. Yonekura, T. Nomura, T. Kondo, S. Yonei and Q-M. Zhang-Akiyama. Modulation of cellular effects of oxygen stress by overexpression of antioxidant enzymes in Human cells. The 14th International Congress of Radiation Research. 2011.8.28-9.1 Warszawa (Poland).

(11) Zhang-Akiyama, Q-M., K. Igarashi, T. Moriwaki, K. Hashiguchi. Identification of AP endonuclease (CiAPE1) in the ascidian *Ciona intestinalis*. The 14th International Congress of Radiation Research. 2011.8.28-9.1 Warszawa (Poland).

(12) Kato, S., K. Hashiguchi, S-I. Yonekura, T. Moriwaki and Q-M. Zhang-Akiyama. The mechanisms and biological roles of repair of oxidatively damaged bases in DNA in the ascidian *Ciona intestinalis*. The 14th International Congress of Radiation Research. 2011.8.28-9.1 Warszawa (Poland).

(13) Moriwaki, T., Y. Kato, S. Ishikawa, K. Hashiguchi and Q-M. Zhang-Akiyama. The analysis of mismatch repair in *C. elegans*. The 5th International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University). 2011.7.18-19, Kyoto.

(14) Kato, Y., T. Moriwaki, A. Ikemoto, K. Hashiguchi and Q-M. Zhang-Akiyama. Characterization of *C. elegans* mutants deficient in base excision repair genes. The 5th International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University). 2011.7.18-19, Kyoto.

(15) Kato, S., K. Hashiguchi, S-I. Yonekura, T. Moriwaki and Q-M. Zhang-Akiyama.

- Oxidatively damaged bases in DNA in the ascidian *Ciona intestinalis*. The 5th International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University). 2011.7.18-19, Kyoto.
- (16) Sanada U and Q-M. Zhang-Akiyama. A novel nudix hydrolase for oxidized purine nucleoside diphosphates encoded by *ndx-2* in *Caenorhabditis elegans*. The 5th International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University). 2011.7.18-19, Kyoto.
- (17) 加藤誠嗣, 森脇隆仁, 細木彩夏, 橋口一成, 田中雅, 秋山(張)秋梅. 天然生薬の線虫寿命への影響及び抗酸化作用効果の検討. 第11回 AOB 研究会. 2011.7.1, 小樽.
- (18) Moriwaki, T., Y. Kato, S. Ishigawa, K. Hashiguchi and Q-M. Zhang-Akiyama. The analysis of mismatch repair in *C. elegans*. The 18th International *C. elegans* Meeting. 2011.6.22-26, Los Angeles (USA).
- (19) Sanada, U and Q-M. Zhang-Akiyama. *Caenorhabditis elegans* NDX-1 has an 8-oxo-7,8-oxo-dihydrodeoxyguanosine 5'-diphosphate pyrophosphatase activity that contributes to prevent against oxidative stress. The 18th International *C. elegans* Meeting. 2011.6.22-26, Los Angeles (USA).
- (20) Kato, Y., T. Moriwaki, A. Ikemoto, K. Hashiguchi and Q-M. Zhang-Akiyama. Characterization of *C.elegans* mutants deficient in base excision repair genes. The 18th International *C. elegans* Meeting. 2011.6.22-26, Los Angeles (USA).
- (21) 秋山(張)秋梅, 浅井翔太, 橋口一成, 中村允耶, 真田悠生, 石井直明. 線虫 *C.elegans* における酸化ストレス防御遺伝子 (CeOXR-1) によるゲノム安定性維持機構. 日本分子生物学会第 33 回大会・日本生化学会第 83 回合同大会, 2010.12.7-10, 神戸.
- (22) 橋口一成, 秋山(張)秋梅. 核小体局在する酸化的塩基損傷修復酵素ヒト 8-オキシグアニン DNA グリコシラーゼの分子基盤解析. 日本分子生物学会第 33 回大会・日本生化学会第 83 回合同大会, 2010.12.7-10, 神戸.
- (23) 五十嵐健人, 橋口一成, 佐藤ゆたか, 秋山(張)秋梅 (2010) カタユウレイボヤにおける AP エンドヌクレアーゼ 1 ホモログの機能解析. 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010.10.20-22, 京都.
- (24) 加藤悠一, 橋口一成, 秋山(張)秋梅. 線虫 *C. elegans* の AP サイト修復に関わる AP endonuclease (APN-1) の同定と機能解析. 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010.10.20-22, 京都.
- (25) 真田悠生, 西川陽貴, 橋口一成, 秋山(張)秋梅. 線虫における酸化ヌクレオチド分解機構の研究. 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010.10.20-22, 京都.
- (26) 秋山(張)秋梅, 橋口一成, 浅井翔太, 中村允耶, 真田悠生. 真核生物における酸化ストレス防御遺伝子 (OXR1) の突然変異抑制機構. 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010.10.20-22, 京都.
- (27) 森脇隆仁, 石川悟, 橋口一成, 秋山(張)秋梅. 線虫 *C. elegans* における mismatch repair の機能解析. 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010.10.20-22, 京都.
- (28) 細木彩夏, 加藤清輝, 橋口一成, 米倉慎一郎, 近藤隆, 野村崇治, 秋山(張)秋梅. ミトコンドリア局在型の抗酸化酵素による放射線障害抑制の機構と意義. 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010.10.20-22, 京都.
- (29) 加藤誠嗣, 橋口一成, 米倉慎一郎, 五十嵐健人, 秋山(張)秋梅. カタユウレイボヤ *Ciona intestinalis* における酸化的塩基損傷の修復機構の解明. 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010.10.20-22, 京都.
- (30) 秋山(張)秋梅, 加藤悠一, 橋口一成. 線虫 *C. elegans* の AP サイト修復に関わる AP endonuclease (APN-1) の同定と機能解析. 日本遺伝学会第 82 回, 2010.9.20-23, 札幌.
- (31) 加藤誠嗣, 橋口一成, 米倉慎一郎, 五十嵐健人, 秋山(張)秋梅. カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) における酸化的塩基損傷の修復機構の解明. 日本遺伝学会第 82 回, 2010.9.20-23, 札幌.
- (32) Kato, S., S-I. Yonekura and Q-M. Zhang-Akiyama. The Mechanisms and biological roles of repair of oxidatively damaged bases in DNA in the Ascidian *Ciona intestinalis*. The 4th International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University), 2010.9.11-12, Kyoto.
- (33) Sanada, U., H. Nishikawa, K. Hashiguchi and Q-M. Zhang-Akiyama. Study for the mechanism of elimination of the oxidized nucleotides in *Caenorhabditis elegans*. The 4th International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University), 2010.9.11-12, Kyoto.
- (34) 森脇隆仁, 加藤誠嗣, 橋口一成, 真田悠生, 細木彩夏, 田中雅, 秋山(張)秋梅. 天然生薬の線虫寿命への影響及び抗酸化作用効果の検討. 第 10 回 AOB (Antioxidant Biofactor) 研究会. 2010.6.4, 神戸.
- (35) 秋山(張)秋梅, 真田悠生, 浅井翔太, 加藤悠一, 森脇隆仁, 橋口一成, 森永浩伸, 中村允耶. *C. elegans* の酸化 DNA 修復酵素とストレス応答タンパク質のゲノム安定性への関与. 日本分子生物学会第 32 回大会, 2009.12.9-12, 横浜.
- (36) 橋口一成, 田野恵三, 浅井翔太, 渡邊正己, 秋山(張)秋梅. OXR1 タンパク質の機能解析. 日本分子生物学会第 32 回大会, 2009.12.9-12, 横浜.

(37) 真田悠生, 米倉慎一郎, 菊地政弘, 秋山(張)秋梅. 線虫における酸化ヌクレオチド分解酵素の同定と機能の解析. 日本放射線影響学会第 52 回大会, 2009.11.11-13, 広島.

(38) 細木彩夏, 橋口一成, 米倉慎一郎, 近藤隆, 野村崇治, 米井脩治, 秋山(張)秋梅. 抗酸化酵素の高発現によるヒト細胞の酸化ストレス応答の変化. 日本放射線影響学会第 52 回大会, 2009.11.11-13, 広島.

(39) 秋山(張)秋梅, 加藤悠一, 真田悠生, 浅井翔太, 森永浩伸, 中村允耶, 橋口一成. 線虫 *C. elegans* の塩基除去修復酵素が老化細胞死の制御に果たす役割. 日本放射線影響学会第 52 回大会, 2009.11.11-13, 広島.

(40) 加藤悠一, 橋口一成, 秋山(張)秋梅. AP サイト修復に関わる線虫 APN-1 タンパク質の機能解析. 日本放射線影響学会第 52 回大会, 2009.11.11-13, 広島.

(41) 浅井翔太, 橋口一成, 中村允耶, 石井直明, 秋山(張)秋梅. 線虫 *C. elegans* の新規遺伝子 *CeOXR* による ROS 消去と寿命との関係. 日本放射線影響学会第 52 回大会, 2009.11.11-13 広島

(42) 中山強志, 橋口一成, 米倉慎一郎, 米井脩治, 山本和生, 秋山(張)秋梅. 4-NQO の突然変異誘発性における活性酸素の関与. 日本放射線影響学会第 52 回大会, 2009.11.11-13, 広島.

(43) 秋山(張)秋梅, 中村允耶, 森永浩伸, 浅井翔太, 真田悠生, 加藤悠一, 森脇隆仁. 線虫の塩基除去修復とゲノム安定性. 日本遺伝学会第 81 回大会, 2009.9.16-18, 松本.

(44) 真田悠生, 米倉慎一郎, 菊地政弘, 秋山(張)秋梅. 線虫における酸化ヌクレオチド分解酵素の同定と機能の解析. 日本遺伝学会第 81 回大会, 2009.9.16-18, 松本.

(45) Moriwaki, T. and Q-M. Zhang-Akiyama. Analysis of physiological function of mismatch repair system in *Caenorhabditis elegans*. The 3rd International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University), 2009.7.24-25, Kyoto.

(46) Kato, Y., and Q-M. Zhang-Akiyama. Repair of AP sites in *C. elegans*. The 3rd International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University), 2009.7.24-25, Kyoto.

(47) Sanada, U and Q-M. Zhang-Akiyama. Search for the MutT functional homolog in *C. elegans*. The 3rd International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University), 2009.7.24-25, Kyoto.

(48) Asai, S. and Q-M. Zhang-Akiyama. The *C. elegans OXR1* homolog extends lifespan by suppressing oxidative stress. The 3rd International Symposium of the Biodiversity Global COE Project (Kyoto University), 2009.7.24-25, Kyoto.

(49) Zhang-Akiyama, Q-M., D. Nanbara and S. Yonei. Cloning and characterization of an ascidian AP endonuclease that is involved in the repair of AP Sites in DNA in *Ciona intestinalis*. The 3rd ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis, From Molecular Structure to Human Disease, 2009.5.30-6.5, Whistler (Canada).

(50) Morinaga, H., S-I. Yonekura, H. Sugiyama, S. Yonei and Q-M. Zhang-Akiyama. *Caenorhabditis elegans* has two DNA glycosylases for oxidative pyrimidine damage: NTH homolog and a novel DNA glycosylase with functional similarity to NTH. The 3rd ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis, From Molecular Structure to Human Disease, 2009.5.30-6.5, Whistler (Canada).

(51) Nakamura, N., H. Morinaga, M. Kikuchi, S-I. Yonekura, N. Ishii, K. Yamamoto, S. Yonei and Q-M. Zhang-Akiyama. Cloning and characterization of uracil-DNA glycosylase and the biological consequence of the loss of its function in the nematode *Caenorhabditis elegans*. The 3rd ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis, From Molecular Structure to Human Disease, 2009.5.30-6.5, Whistler (Canada).

(52) Zhang-Akiyama, Q-M., A. Hosoki, S-I. Yonekura, G-L. Zhao, Z-L. Wei, T. Nomura, A. Tachibana, S. Yonei and T. Kondo. Overexpression of mitochondria-targeted SOD2 regulates radiation resistance and gene expression in HeLaS3 cells. The 2nd Asian Congress of Radiation Research. 2009. 5. 17-20, Seoul (Korea).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋山(張)秋梅

(ZHANG-AKIYAMA QIU-MEI)

京都大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：00260604

(2) 研究分担者

橋口一成 (HASHIGUCHI KAZUNARI)

京都大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：80400414