

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26251004

研究課題名(和文) Rif1タンパク質による複製、組換え、修復、転写などの包括的制御機構の解明

研究課題名(英文) Concerted regulation of DNA replication, transcription, and repair by the conserved nuclear factor Rif1.

研究代表者

正井 久雄 (MASAI, Hisao)

公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・副所長

研究者番号：40229349

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,100,000円

研究成果の概要(和文)：分裂酵母Rif1はその結合部位(Rif1BS)に保存されるグアニンの連続配列(Rif1CS)に依存してクロマチンに結合し、その近傍100kbに渡り複製開始を抑制する。・Rif1BSはRif1CSに依存してグアニン4重鎖(G4)を形成する。・精製Rif1は多量体を形成しG4に特異的に結合する。・Rif1はC端に依存して核膜に局在する。・B細胞の免疫グロブリンのクラススイッチ及びT細胞受容体再編成に要求される。・ES細胞では2細胞期特異的遺伝子群の転写を抑制する。これらから、Rif1はG4結合を介して核膜近傍に、複製、転写、修復などを制御するクロマチンドメインを形成する可能性を提唱した。

研究成果の概要(英文)：Rif1 is a conserved chromatin factor that regulates DNA replication, DNA repair and transcription. It may be involved in chromatin loop formation at nuclear periphery. We have determined genome-wide Rif1 bindings sites (Rif1BS) in fission yeast and identified a G-rich consensus sequence (Rif1CS). We then demonstrated the essential role of Rif1CS in chromatin binding of Rif1 and subsequent repression of DNA replication over a 100kb segment. Footprinting with DMS or various nucleases, polymerase stop assays as well as the effect of 7-deaza dGTP demonstrated that Rif1BS adopts G-quadruplex like structures. Purified fission yeast and mammalian Rif1 proteins specifically bind to this structure. Rif1 can simultaneously bind to multiple molecules of G4 through oligomerization, providing potential basis for its ability to tether multiple chromatin fibers to generate chromatin compartment that may coordinately regulate replication, transcription or repair.

研究分野：生化学

キーワード：複製タイミング グアニン4重鎖 クロマチンループ 染色体高次構造 非相同末端結合 Rif1タンパク質 ES細胞 転写

1. 研究開始当初の背景

長大な染色体 DNA 複製が限定された時間内に完了するために、染色体は時間的、空間的なルールに従って秩序正しく複製される。我々は、複製開始を触媒する Cdc7 キナーゼの機能をバイパスする変異体として *rif1* を同定した。その後 Rif1 は、酵母からヒト細胞に至るまで染色体複製タイミングを制御する重要な因子である事を明らかにした。一方、Rif1 は二本鎖 DNA 切断(以下 DSB)の末端消化を阻害し組換え修復を阻害するとともに、53BP1 の下流で非相同末端結合を促進する事が明らかになった。一方、Rif1 ノックアウト(以下 KO) マウスはある遺伝的背景ではメス特異的な致死性を示すため X 染色体の異常が示唆されたが、実際 Xist RNA の発現の低下、X 染色体不活性化の異常が Rif1KO 細胞で観察された。Rif1 がこれらの多様な機能をどのようなメカニズムで発揮するかは、全く未知である。我々のこれまでの研究から、Rif1 は核膜や核小体辺縁部の構造体に M 後期/G1 期初期に強固に結合し、クロマチンループの大きさを制御する事が明らかになっている。この結合により、S 期中期の複製タイミングドメインを形成する可能性を提唱した。一方、酵母において Rif1 は脱リン酸化酵素に結合し、Cdc7 によるリン酸化反応を抑制する可能性も提唱された。本研究では Rif1 の作用機序について、その分子メカニズムの解明を目指す。

2. 研究の目的

長大な染色体の複製を S 期内に完了するため、染色体複製は時空間的な制御下にある。代表者らは、酵母及び動物細胞においてゲノムワイドの染色体複製タイミングを制御する重要な因子として Rif1 を同定した。一方、Rif1 は相同組換えによる二本鎖 DNA 切断修復を抑制し非相同末端結合を促進すると報告された。又特定の転写にも大きな影響を与える。これらの Rif1 の多様な作用の分子基盤を明らかにする事が本研究の目的である。このために、酵母と動物細胞を用いて Rif1 の染色体上結合部位、核内局在部位、分子上の機能部位等の同定、更に個体レベルでの機能解析を行なう。

具体的には、分裂酵母と動物細胞を用いて、Rif1 結合部位の一次元ゲノム上の分布、核内三次元分布を既知の染色体局在マップ上に投影し複製タイミングドメインの局在と比較する。同時に、Rif1 の核内局在を三次元高解像度顕微鏡(3D-SIM[Structured illumination microscopy]等)で解析する。Rif1 欠損時の染色体の核内局在を調べ、Rif1 が染色体の核内の存在状態に影響を与えるかを検討する。又、Rif1 の種々の変異体を解析し、酵母及び動物細胞で各種の機能に必要な領域を同定する。特に脱リン酸化酵素等の作業分子が結合する領域があるかどうかを検討する。更に Rif1 タンパク質を精製し、Rif1 タンパク質の生化学

的性質、形態、構造を明らかにする。これらの実験から、Rif1 の作用機序を明らかにすると共に、Rif1 が核内の染色体局在、高次構築を制御するメカニズムを明らかにする。更すでに樹立している Rif1KO マウス・細胞を用いて Rif1 の個体発生・分化・ゲノム安定性維持などにおける機能を解析する。これらの実験結果に基づいて、Rif1 の作用機序を解明する。

3. 研究の方法

(1) Rif1 の染色体上結合部位の決定: Chip on chip あるいは ChIP-Seq 法により決定する。

(2) Rif1 KO マウスは Sara Buonomo 博士(エンバラ大学)から供与を受けた。

(3) Rif1 の DNA 結合の測定: ゲルシフトアッセイあるいはビオチン化 DNA を用いたプルダウンアッセイにより行った。

4. 研究成果

(1) 分裂酵母ゲノム上 Rif1 結合部位の決定

ChIP seq により分裂酵母ゲノム上の Rif1 結合部位を決定した。35 個の強い結合部位(Rif1BS)が同定された(図 1)。Rif1BS は遺伝子間領域に存在し、複製起点の場所とは重なっていない。複製活性と比較すると Rif1BS は HU 存在下で活性の低い領域(後期に複製される領域)の近傍に存在する傾向がある。Rif1BS の配列を解析した結果、グアニンに富んだ保存配列 Rif1CS (CNWWGTGGGGG) が見出された。この配列は、Rif1BS 内に二個以上存在することが多く、それらは 3/4 のケースで head-to-tail に並んでおり、その間隔はばらつきがあるが平均 100bp であった。Hi-C の data に基づいて推測される、核内の染色体の配置モデルを用いて、Rif1BS、特に head-to-tail に Rif1CS が並んでいる Rif1BS の近傍(物理的に近い距離)に *rif1Δ* で活性化される後期起点が存在する確率が高いことが示された(図 2)。また、核内の配置図上に投影すると、Rif1 結合部位は核膜の近傍、あるいは核小体のまわりに多く存在すること、野生型では核の内部で複製が起こるが、*rif1Δ* では核膜や核小体のまわりで複製が起こることがわかる(図 3)。これらの data から Rif1 は核膜や核小体のまわりに結合することにより、そこで複製を抑制していると推定される。

(2) Rif1CS は Rif1 の染色体結合に必要

Rif1 の染色体結合における Rif1CS の意義を解明するため、ある Rif1BS において Rif1CS に変異を導入し、その影響を検討した。Rif1BS I_2663 の二個の Rif1CS のうちひとつずつに変異を導入すると、それぞれ 10%、40% に結合が低下した。両方に変異を導入すると結合はほぼ消失した(図 4)。複製への影響を調べるために、HU 存在下における BrdU の取り込みを調べた。その結果、変異を導入した Rif1BS の近傍において複製活性が増加した。その影響は 53kb 離れた領域でも観察された。ゲノムワイドの BrdU の取り込みの解析によ

っても、結合部位のまわり 100kb ほどの領域への影響が観察された(図 5)。これらの結果は、Rif1 は Rif1CS に依存して染色体に結合し、それにより、その近傍の長い領域の複製を抑制することを示す。

(3) Rif1 はグアニン 4 重鎖構造に結合する。

Rif1 は dsDNA に弱く結合するが、Rif1CS に依存しない。Rif1BS には Rif1CS のグアニン連続配列以外にもグアニンの連続配列が存在する。そこで、特殊な DNA 構造を形成する可能性を探索した。Rif1BS を熱変性した結果、ゲル上でゆっくり泳動されるバンドが現れた(図 6)。このバンドは、Rif1CS 変異により消失する。また、7-deazaguanine に guanine を置換した Rif1BS DNA では同様の処理を行っても遅く移動するバンドは形成されなかった。さらに、G4 構造を安定化することが知られている G4 リガンドの一つ、7OTD を添加すると、この構造は安定化された(図 6)。次に、精製した Rif1 が実際に G4 構造に結合するかどうかをゲルシフトアッセイで調べた結果、1 本鎖 DNA 上に形成される G4 DNA に特異的に結合することが明らかになった(図 7)。さらに、Rif1BS を含む二本鎖 DNA を鋳型に用いてゲルシフトアッセイを行った結果、この場合も熱処理により生じる G4 を含むと思われる DNA 構造に選択的に結合することが明らかとなった。上記は分裂酵母 Rif1 を用いた結果であるが、動物細胞の Rif1 タンパク質も同様に G4 に特異的に結合することを我々は示している。これらの結果から、Rif1 は、G4 構造を特異的に認識・結合することが明らかとなった。

(4) Rif1 によるクロマチン機能ドメイン形成のメカニズム

プルダウンアッセイによっても Rif1 は、G4 に結合することを示すことができた。そこで、ビオチン化した G4 DNA を用いて、共存する ^{32}P で標識した G4 DNA が同時に結合できるかどうかを調べた。その結果、Rif1 タンパク質の存在下で、共存する G4 DNA がビオチン化した G4 DNA とともにプルダウンされることが示された。 ^{32}P で標識した DNA が G4 構造を形成しない時にはプルダウンされない(図 8)。この事実は、Rif1 は、複数の G4 に同時に結合できることを示す。

精製 Rif1 の生化学的解析から、分裂酵母及び動物細胞の Rif1 は、いずれも多量体を形成することが明らかとなった。Rif1 のそれぞれのサブユニットに異なる G4 DNA が結合することにより、Rif1 は複数の G4 に同時に結合する可能性が示唆される。そして、これは、Rif1 が核膜近傍において、G4 DNA 結合を介して、染色体 DNA を束ねてクロマチンループ構造を形成する分子基盤のひとつであると提唱した。

なお、Rif1 の非存在下でも、効率は低いが、 ^{32}P G4 DNA のプルダウンが観察された。このことは、G4 は自己集合する能力を有する可能性も示唆する。

(5) Rif1 のその他の機能

Rif1 ノックアウトマウスは胎生中期に死亡する。Rif1 のその他の生物学的機能を解明するため、臓器特異的な Rif1 ノックアウトを作製し、その機能の解析を行った。Lck-Cre あるいは Lck-CD4 マウスと掛け合わせ、血球細胞分化の途中で Rif1 を欠損させた(図 9)。いずれのマウスも生まれ、生存することができる。したがって Rif1 の機能は Lck が機能する以降の血球分化には不要であることが明らかになった。しかし、Lck-Cre Rif1(F/F)脾臓では、T 細胞群が減少していた。

以前に B 細胞の免疫グロブリンのクラススイッチに Rif1 が必要とされるという報告がされている。T 細胞受容体再編成を調べた結果、Lck-Cre Rif1(F/F)により、異常になっていることが示された。このことは、DNA 切断修復における Rif1 の機能を支持するものである。

ES 細胞において Rif1 は高発現されている。Rif1 のノックアウトあるいは siRNA による発現減少は、iPS 細胞形成の効率を減少させた。このことは、Rif1 は効率良い iPS 細胞の形成に必要であることを示す。一方、Rif1 の発現抑制は、未分化状態に維持に影響を与えると同時に、ES 細胞の分化の過程にも障害を与える。これらのことから、適切な Rif1 の発現が、幹細胞の増殖・維持そして分化に重要であることが示唆される。

Rif1 の発現抑制により転写のプロファイルが変化する。特に、Zscan4 遺伝子クラスターなど、2 細胞期特異的遺伝子群の転写が著しく増加する。他の細胞においても、Rif1 は、遺伝子クラスター領域の転写を統合的に抑制していることを見出している。

本研究から、Rif1 は複製、修復、転写を制御することが明らかとなった。またその制御に G4 結合を介したクロマチン高次構造制御が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。Rif1 がこれらのことなる染色体ダイナミクスを、クロマチン制御を介した共通のメカニズムで制御するかどうかを今後明らかにしていきたい。

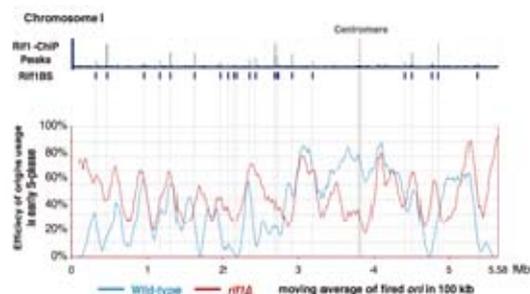


図 1 分裂酵母ゲノム Rif1 結合部位と複製タイミングマップ (上) 1 番染色体上の Rif1 ChIP-seq のデータ。(下) HU 存在下でマップされる複製領域。rif1Δ 株では、野生株では完全に抑制されていたテロメア領域を中心に後期複製起点が活性化している。青：野生型；赤：rif1Δ 株；横軸：HU 存在下での複製開始効率

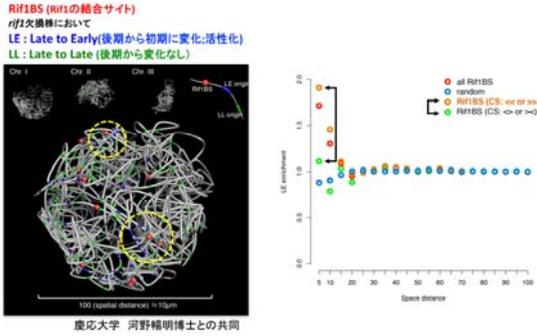


図2 Rif1BS及び複製起点のモデル核内染色体上の位置
Rif1により制御される後期複製起点は、3次元的に、Rif1BSの近傍に存在する。特にRif1CSをhead-to-tailに2個有するRif1結合部位でその傾向が顕著である。慶応大学 河野暢明博士との共同研究。

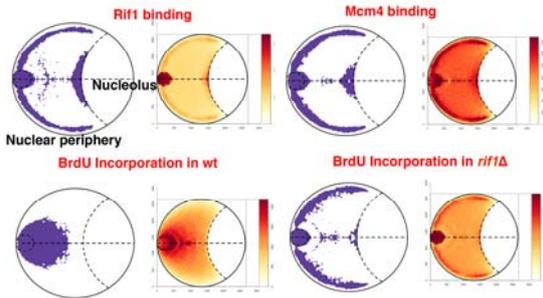


図3 分裂酵母における核内タンパク質およびDNA複製部位の分布のモデル
Rif1は核膜近傍および核小体のまわりに結合する。Mcm4は核の内部および核膜近傍の両者に結合している。野生株においては、DNA複製はおも核の内部で起こっている。一方、rif1Δ株では複製は核膜近傍および核小体のまわりでも起こっていることがわかる。このdataは、Rif1は染色体に結合することにより、複製を抑制していることを示唆する。ニュージーランドのUniv AucklandのJustin O'Sullivanとの共同研究。

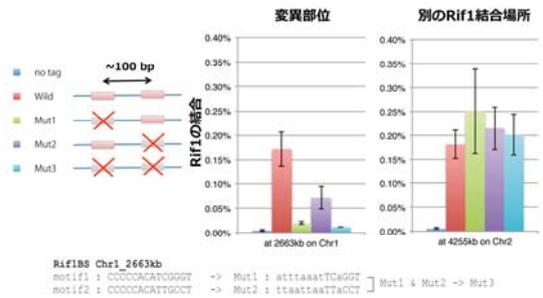


図4 Rif1CS変異のRif1のクロマチン結合に及ぼす影響
Chr1の2663に存在するRif1BSの二つのRif1CSのそれぞれのグアニンを変異させると結合が90%あるいは60%減少した。両方に変異を入れるとほぼ完全に結合しなくなった。この実験からRif1CSはRif1のクロマチン結合に必須であることが示された。

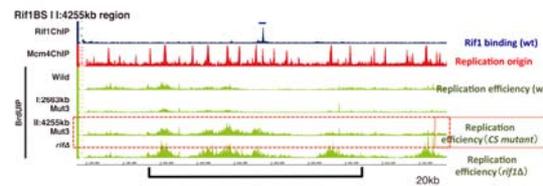


図5 Rif1CS変異のDNA複製に及ぼす影響(ゲノムワイド解析)
ChrII 4255 (Rif1結合部位)周辺のChIP seqの結果。
青: Rif1結合; 赤: Mcm4の結合; 緑: BrdU取り込み(DNA複製)-上から、野生株、ChrI 2663(別のRif1結合部位)の変異体; ChrII 4255の変異体; rif1欠損株。
Rif1CSの変異により結合部位を含む100kb近くの領域の複製が脱抑制される。

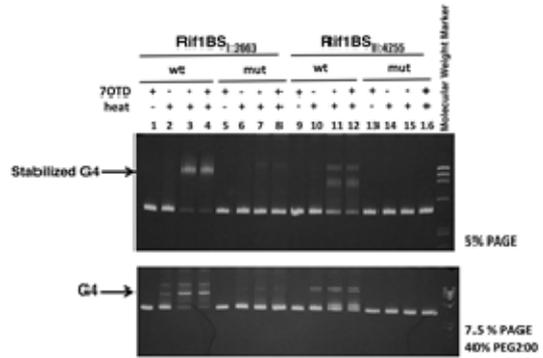


図6 Rif1BS DNAとG4構造の関係
Rif1BSの含む二本鎖DNAを熱処理してPEG200を含まないゲル(上)および含むゲル(下)に流した。PEG200を含むゲルでは遅く泳動する分子が見れる(lanes 2, 10)。Rif1CSの変異体では現れない(lanes 6, 14)。一方PEG200を含まないゲルでは、これらのゆっくり泳動するバンドは現れない、しかし、G4を安定化することが知られている70TDを加えておくとG4構造が安定化し、G4と思われる強いバンドが現れた(lanes 3, 4, 11, 12)。他のdataとも合わせてRif1BSはG4を形成し得ると結論された。

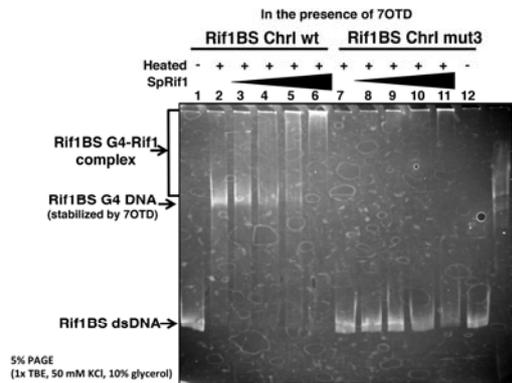


図7 Rif1はG4に結合する。
Rif1BSを含む二本鎖DNA(野生型wtあるいはRif1CS変異mut3)を熱処理し、精製分裂酵母Rif1を用いてゲルシフトアッセイを行った。G4構造を安定化するために70TDを加えている。野生型で形成される遅く泳動するバンドにRif1は結合する。

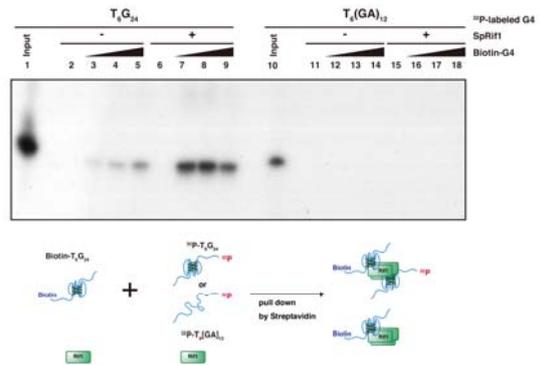


図8 Rif1とG4との相互作用: プルダウンアッセイ
5'末端をビオチン化されたG4形成配列T₆G₂₄を、³²Pで標識したT₆(GA)₁₂(G4形成しない配列)と混合し、ストレプトアビジンでプルダウンする。その際、Rif1ありなしで行う。Rif1ありの場合、T₆G₂₄と一緒にプルダウンされる。T₆(GA)₁₂はプルダウンされない。この結果は、Rif1は同時に複数のG4分子に結合できることを示す。なお、Rif1なしでも、少量のT₆G₂₄はプルダウンされることからG4同士が自己集合する能力を有することが示唆された。

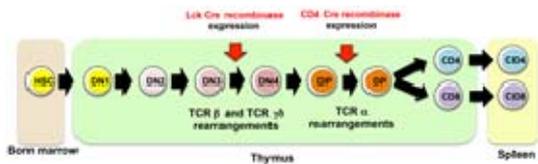


図9 胸腺および脾臓における血球細胞の分化
Lck と CD4 の発現の時期を示す。Lck-Cre Rif1(F/F)脾臓
においては、T 細胞群が減少していたが、胸腺では減少し
ていなかった。

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 30 件)

1. Irie T, Asami T, Sawa A, Uno Y, Hanada M, Taniyama C, Funakoshi Y, Masai H, and Sawa M. (2017) "Discovery of novel furanone derivatives as potent Cdc7 kinase inhibitors." *Eur. J. Med. Chem.* 130, 406-418. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.02.030. 査読有
2. You, Z. and Masai, H. (2017) "Potent DNA strand annealing activity associated with mouse Mcm2~7 heterohexameric complex." *Nucleic Acids Res.* 45,6495-6506. doi: 10.1093/nar/gkx269. 査読有
3. Toteva, T., Mason, B., Kanoh, Y., Brøgger, P., Green, D., Verhein-Hansen, J., Masai, H. and Thon, G. (2017) "Establishment of expression-state boundaries by Rif1 and Taz1 in fission yeast." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 114, 1093-1098. doi: 10.1073/pnas.1614837114. 査読有
4. Matsumoto, S., Kanoh, Y., Shimmoto, M., Hayano, M., Ueda, K., Fukatsu, R., Kakusho, N., and Masai, H. (2017) "Checkpoint-independent Regulation of Origin Firing by Mrc1 through Interaction with Hsk1 kinase." *Mol. Cell. Biol.* Mar 17;37(7). pii: e00355-16. doi: 10.1128/MCB.00355-16. 査読有
5. Moriyama, K., Lai, M.S. and Masai, H. (2017) "Interaction of Rif1 Protein with G-Quadruplex in Control of Chromosome Transactions." *Adv Exp Med Biol Vol.* 1042, 287-310 "DNA Replication, From Old Principles to New Discoveries" (Masai, H. and Foiani, M. Eds) doi: 10.1007/978-981-10-6955-0_14. 査読有
6. Masai, H., Yang, C-C., and Matsumoto, S. (2017) "Mrc1/Claspin: a new role for regulation of origin firing." *Current Genetics* 45, 6494-6506. (Review) doi: 10.1080/15384101.2017.1304746. 査読有
7. Masai, H. (2017) "A novel p53-Cdc7 link induced by genotoix stress." *Cell Cycle*, 6, 735-736 (News and Views) doi: 10.1080/15384101.2017.1304746. 査読有
8. Masai, H., Kanoh, Y., Moriyama, K., Yamazaki, S., Yoshizawa, N., and Matsumoto, S. (2017) "Telomere binding factors in regulation of DNA replication." *Genes & Genetic Systems*, 92, 119-125 (Review) doi: 10.1266/ggs.17-00008. 査読有
9. Yang, C-C., Suzuki, M., Yamakawa, S., Uno, S., Ishii, A., Yamazaki, S., Fukatsu, R., Fujisawa, R., Sakimura, K., Tsurimoto, T., and Masai, H. (2016) "Claspin recruits Cdc7 kinase for initiation of DNA replication in human cells." *Nature Communications* 7:12135 doi: 10.1038/ncomms12135. 査読有
10. You, Z., Ode, K.L, Takisawa, H., and Masai, H. (2016) "Characterization of conserved arginine residues on Cdt1 that affect licensing activity and interaction with Geminin or Mcm complex." *Cell Cycle* 5, 1213-1226. doi: 10.1080/15384101.2015.1106652. 査読有
11. Tanaka T, Nishito Y, Masai H. (2016) "Fork restart protein, PriA, binds around oriC after depletion of nucleotide precursors: Replication fork arrest near the replication origin." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 470, 546-551. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.01.108. 査読有
12. Yoshizawa-Sugata, N., Yamazaki, S. and Masai, H. (2016) Rif1, a Conserved Chromatin Factor Regulating DNA Replication, DNA Repair, and Transcription. *The Initiation of DNA Replication in Eukaryotes*, 1st Ed., Kaplan, D.L.(Ed.) (Springer International Publishing) Doi:10.1007/978-3-319-24696-3. 査読有
13. Koiwai, K., Kubota, T., Watanabe, N., Hori, K., Koiwai, O. and Masai, H. (2015) "Definition of the transcription factor TdIF1 consensus binding sequence through genome-wide mapping of its binding sites." *Genes to Cells* 20, 242-254. doi: 10.1111/gtc.12216. 査読有
14. Zech, J., Godfrey, E.L., Masai, H., Hartsuiker, E. and Dalgaard, J.Z. (2015) "The DNA-Binding Domain of S. pombe Mrc1 (Claspin) Acts to Enhance Stalling at Replication Barriers." *PLoS One* 10, e0132595. doi: 10.1371/journal.pone.0132595. 査読有
15. Kanoh, Y., Matsumoto, S., Fukatsu, R., Kakusho, N., Kono, N., Renard-Guillet, C., Masuda, K., Iida, K., Nagasawa, K., Shirahige, K., and Masai, H. (2015) "Rif1 binds to G-quadruplexes and suppresses replication over long distances." *Nature Struct. Mol. Biol.* 22, 889-897. doi: 10.1038/nsmb.3102. 査読有
16. Masai, H. (2015) "Building up the machinery for DNA replication." *Cell Cycle* 14, 3011-3012. (News and Views) doi: 10.1080/15384101.2015.1084195. 査読有

17. 加納 豊、松本 清治、正井 久雄 「Rif1 はグアニン 4 重鎖構造を形成する DNA を介して染色体へ結合し複製の開始を 広範囲にわたり抑制する」ライフサイエンス 新着論文レビュー 2015 年 11 月 4 日 公 開
<http://first.lifesciencedb.jp/archives/11870>
DOI: 10.7875/first.author.2015.127 査読無
18. Yoshizawa-Sugata, N. and Masai, H. (2014) "Cell cycle synchronization and flow cytometry analysis of mammalian cell." *Methods in Molecular Biology*, 1170, 279-293. (Review) doi: 10.1007/978-1-4939-0888-2_13. 査読有
19. Hisao Masai (2014) "ATM in prevention of genomic instability." *Cell Cycle*, 13, 882-883. (News and Views) doi: 10.4161/cc.28216. 査読有
20. Renard-Guillet, C., Kanoh, Y., Shirahige, K., and Masai, H. (2014) "Temporal and spatial regulation of eukaryotic DNA replication: from regulated initiation to genome-scale timing program." *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 30, 110-120. (Review) doi: 10.1016/j.semcd.2014.04.014. 査読有

[学会発表] (計 24 件)

1. 正井 久雄、グアニン 4 重鎖構造：諸刃の剣のゲノム情報、生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (招待講演)、2017
2. 正井 久雄、細胞内におけるグアニン 4 重鎖 DNA 構造の存在を証明する新規技法の開発、第 24 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ、2017
3. 正井 久雄、Rif1 タンパク質の標的であるグアニン 4 重鎖 DNA 構造の分裂酵母細胞内での存在を証明するための新しい方法の開発、第 35 回染色体ワークショップ・第 16 回核ダイナミクス研究会、2017
4. Masai, H.、Interaction with G-quadruplex structures forms a basis for Rif1-mediated regulation of DNA replication, transcription and chromatin architecture、Cold Spring Harbor Asia conference on DNA Metabolism, Genomic Stability and Human Disease (招待講演)、2016
5. Masai, H.、グアニン 4 重鎖構造の生物学的意義 Molecular basis of chromosome and genome instability in cancer、HiHA 第 6 回 Workshop Hiroshima Research Center for Healthy Aging (招待講演)、2016
6. 正井 久雄、グアニン 4 重鎖構造の生物学的意義 Biological Roles of G-quadruplex、第 75 回日本癌学会学術総会 (招待講演)、2016
7. 正井 久雄、グアニン 4 重鎖構造の普遍的生物学的意義の解明に向けて、第 39 回日本分子生物学会年会 (招待講演)、

2016

8. 正井 久雄、Interaction with G-quadruplex structures forms a basis for Rif1-mediated regulation of DNA replication, transcription and chromatin architecture、BMB2015 (招待講演)、2015
9. Hisao Masai、Roles of G-quadruplex structures in regulation of DNA replication、Cold Spring Harbor Meeting EUKARYOTIC DNA REPLICATION & GENOME MAINTENANCE (招待講演)、2015
10. Hisao Masai、Interaction of Rif1 and G-quadruplex forms a basis of Rif1-mediated chromatin regulation、The 8th international fission yeast meeting (Pombe2015) (招待講演)、2015
11. 正井 久雄、染色体 DNA 複製プログラムの制御機構、大阪大学蛋白質研究所セミナー「染色体伝承の分子背景：複製から染色体分離まで」(招待講演)、2014
12. Hisao Masai、Regulation of mammalian Mcm helicase complexes、第 87 回日本生化学会大会 シンポジウム (招待講演)、2014
13. 正井 久雄、ゲノム DNA 複製制御のメカニズム：生物種を超えた統一像と多様性 (Conserved mechanisms and diversity of genome DNA replication: from bacteria to human)、第 37 回日本分子生物学会年会 (招待講演)、2014

[図書] (計 2 件)

1. 正井 久雄「多様な染色体ダイナミクスの modulator kinase, Cdc7」雑誌 生化学 第 5 号 pp719-730. (2017) (査読有)
2. 加納 豊、松本 清治、正井 久雄 「Rif1 はグアニン 4 重鎖構造を介して染色体に結合し、広範囲に複製を抑制する」カレントトピックス 実験医学 2016 年 2 月号 458-461 羊土社 査読無

[その他]

ホームページ等

<http://www.igakuken.or.jp/genome/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

正井 久雄 (MASAI, Hisao)

公益財団法人東京都医学総合研究所・ゲノム医科学研究分野・副所長

研究者番号：40229349