

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：12608

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H05974

研究課題名(和文)DNA二重鎖切断修復装置の3D作動原理

研究課題名(英文)Molecular Mechanism of homologous recombination-mediated DNA double strand break repair

研究代表者

岩崎 博史(Iwasaki, Hiroshi)

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授

研究者番号：60232659

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 97,400,000円

研究成果の概要(和文)：本計画研究では、相同組換えによるDNA二重鎖切断修復の分子機構を解明することを目指した。相同組換え修復の初期過程では、DNA二重鎖切断末端がMre11ヌクレアーゼによってプロセスされ、1本鎖DNAが生成される。Rad51タンパク質は1本鎖DNAに結合して、ドナーとなる二重鎖DNAの相同性検索とDNA鎖交換を触媒する。これらの反応を高純度に精製したタンパク質を用いた試験管内再構成系を用いて解析した。その結果、初期過程においては、Ctp1タンパク質がMre11を活性化する分子機構、中期過程においては、Rad51によるDNA鎖交換反応を速度論的解析し、これらの反応の分子メカニズムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回明らかにしたCtp1によるMre11エンドヌクレアーゼの活性化機構やRad51のDNA鎖交換反応は、関与するアミノ酸残基が真核生物において高度に保存されていることから、真核生物における相同組換え分子機構の普遍的な共通機序であると考えられ、その学術的意義は極めて大きい。相同組換えに関与する多くのタンパク質は、がん抑制タンパク質として知られており、今回の知見はがん発生機構の解明に寄与することが予想され、医学的にも期待される。さらに、本研究期間で開発したFRETを利用したリアルタイム解析系は他の多くのダイナミクス解析に応用利用できる可能性があり、その高い波及効果が期待される。

研究成果の概要(英文)：We aimed to elucidate the molecular principle of homologous recombination-mediated DNA double-strand break repair in vitro. In the early stage of homologous recombination, the DNA double-strand break end is processed by Mre11 nuclease to produce 3' protruded ssDNA, which becomes a substrate of Rad51 protein. The Rad51 protein binds to the single-stranded DNA. The resultant presynaptic filament initiates the homology search and catalyzes strand exchange with the double-stranded DNA serving as the donor. These reactions were analyzed using an in vitro reconstitution system consisting of highly purified protein. We have elucidated that the molecular mechanisms by which the Ctp1 protein activates Mre11 and by which Rad51 promotes the DNA strand exchange reaction in three steps.

研究分野：分子生物学

キーワード：DNA二重鎖切断修復 相同組換え Rad51 試験管内再構成系 DNA鎖交換反応 ATP リアルタイム解析 Mre11

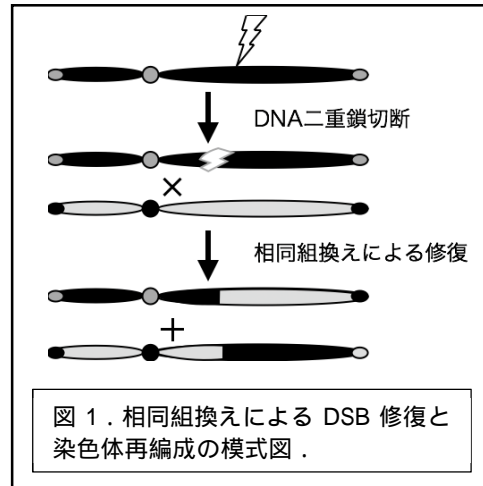
## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

DNA の二重鎖切断 (DNA double strand breaks; DSBs) は、細胞にとって最も危機的な DNA 損傷の一つである。これは、電離放射線暴露やある種の抗がん剤投与、また、DNA 合成阻害に伴う複製フォークの崩壊によって、偶発的に発生する。一方、生存に不利な DSB 形成だけではなく、予めプログラムされた DSB が生成し正常な細胞機能に必須の役割を果たす場合もある。たとえば、減数分裂や酵母の接合型変換などで DSB がプログラムされて生じ、それが引き金となって組換えがおこる。どちらの場合でも DSB が修復されないままだと細胞は死に到るが、通常、進化的に保存された DNA 修復機構によって修復されている。

DSB 修復は、非相同末端結合反応、もしくは、相同組換えによって修復される。特に、相同組換えは、姉妹染色体が存在する細胞周期において活発に働き、正確に修復できる細胞機能として、進化的に保存されたシステムである。また、プログラムされた DSB は、相同組換え機構によって修復され、その生命機能 (減数分裂組換えや接合型変換) を発揮する (図 1)。

相同組換えは、3 つのステップに分けられる。初期反応では、DSB が形成されたあと、Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN) 複合体がリクルートされ、DSB 末端が処理され、3' が突出した 1 本鎖 DNA (ssDNA) が形成される。生じた ssDNA は、次のステップで Rad51 リコンビナーゼの基質となり、相同な二重鎖 DNA と鎖を交換する。最終ステップでは、組換え体の二重鎖 DNA が生成される。研究開始当初は、Mre11 エンドヌクレアーゼの活性制御や Rad51 の鎖交換反応の分子機構において多くの不明点があった。



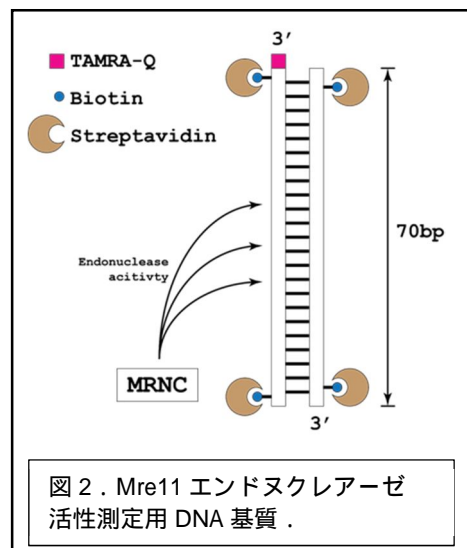
### 2. 研究の目的

本計画研究では、高純度に精製した蛋白質コンポーネントを用いて、相同組換えによる DSB 修復を試験管内で再構成し、その作動原理を解明することを目的とした。特に、次の項目に注力した。

- (1) 組換え初期反応において、MRN 複合体が Ctp1 によって活性化されることが示唆されている。そこで、MRN-Ctp1 複合体を再構成して、Nre11 エンドヌクレアーゼ活性がどのように Ctp1 によって活性化されるのか、その分子機構の解明に焦点を当てた。
- (2) Rad51 による DNA 鎖交換反応は、長い間、多くの研究者によって解析されているが、未だにその反応機構は不明な点が多い。そこで、本研究では、リアルタイムアッセイ系を導入して、動的な解析から、分子機構を明らかにしようとした。
- (3) Swi5-Sfr1 タンパク質複合体は Rad51 の補助因子として機能する。実際に Rad51 とどのように相互作用し、どのように活性化するのか、その分子機構の解明を目指した。
- (4) プログラムされた DSB 修復のモデル系として、分裂酵母の接合型変換を解析し、どのようにドナー DNA が選択されるのか、その分子機構の解明を目指した。

### 3. 研究の方法

- (1) 相同組換えに関与するタンパク質の精製  
分裂酵母由来の Mre11-Rad50 タンパク質複合体、Nbs1 タンパク質、Ctp1 タンパク質、Rad51、RPA、Swi5-Sfr1、Cka1 など必要なタンパク質を、大腸菌 (T7 系)、酵母、昆虫細胞などの多量発現系を用いて高発現後、高純度に精製し、試験管内で再構成した。
- (2) Mre11 エンドヌクレアーゼの活性測定  
両末端にビオチン付加したオリゴヌクレオチドをアニールして二重鎖 DNA を作製し、その後ストレプトアビジンを付加することで、末端をブロックした。このブロックにより、Mre11 のエキソヌクレアーゼ活性は検出されず、エンドヌクレアーゼ活性だけをモニターした (図 2)。
- (3) DNA 鎖交換反応のリアルタイムアッセイ系  
蛍光共鳴エネルギー移動 (Fluorescence Resonance Energy Transfer: FRET) を用いて、DNA 鎖交換反応における DNA の対合 (pairing) と解離 (dissociation) をそれぞれリアルタイムでモニターできる系を確立した (図 3)。Rad51 は ssDNA に数珠状に結合して、鎖交換反応を触媒する。このタンパク質・核酸複合体を Rad51 プレシナプティックフィラメント



とよぶ。対合アッセイでは、プレシナプティックフィラメントを形成するssDNAをフルオレセインで、ドナー二重鎖の相補鎖をローダミンで標識した。両者が対合するとFRETが生じ、フルオレセインの蛍光強度が低下する(図3A)。一方、解離反応では、フルオレセインとローダミンで標識したドナー二重鎖を用いた(図3B)。プレシナプティックフィラメントを形成するssDNAと鎖交換がおこると、ドナー二重鎖が解離することで、フルオレセインの蛍光強度が上昇する。1秒毎の蛍光変化を測定し、DynaFitプログラム(<http://www.biokin.com/dynafit/>)を用いて、反応機構をシミュレーションした。

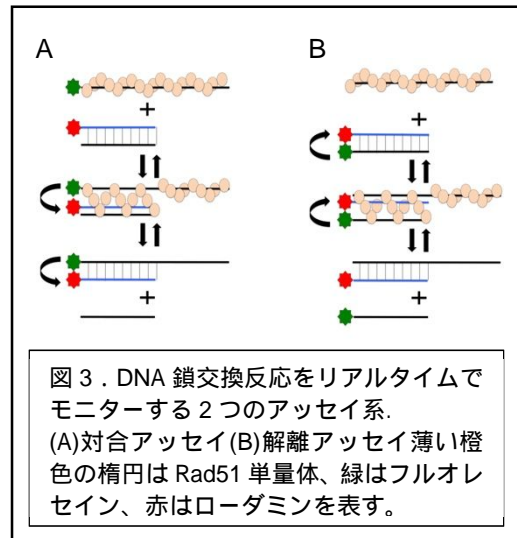


図3. DNA 鎖交換反応をリアルタイムでモニターする2つのアッセイ系。(A)対合アッセイ(B)解離アッセイ薄い橙色の楕円はRad51単量体、緑はフルオレセイン、赤はローダミンを表す。

#### 4. 研究成果

##### (1) MRN 複合体の制御機構

分裂酵母 Ctp1 がリン酸化されることで、MRN 複合体を活性化されることが、遺伝学的な解析から提唱されていたが、その分子の実態は全く不明であった。そこで、まず、我々は、試験管内で MRN-Ctp1 複合体の再構成系を試みた。そのために、まず、カゼインキナーゼ 2 (CK2) を用いて、Ctp1 をリン酸化した。質量分析解析によって、リン酸化部位を同定したところ、遺伝学的解析などから以前に提唱されていた部位と一致した。リン酸化 Ctp1 を MRN 複合体と混和すると、両者は共沈降したことから、MRN 複合体と Ctp1 との高次複合体が確認された。一方 Ctp1 をリン酸化しないときには、この複合体は形成されないことから、MRN-Ctp1 複合体形成は、Ctp1 のリン酸化に依存していることが分かった。

さらに、MRN-Ctp1 複合体形成には、Nbs1 が必須であること、また、リン酸化 Ctp1 が Nbs1 と結合することを証明し、リン酸化 Ctp1 が Nbs1 を介して MRN-Ctp1 高次複合体が形成されることを明らかにした。

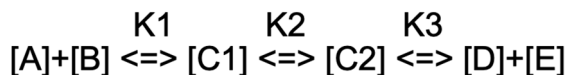
重要な知見として、MRN-Ctp1 複合体が形成されると、Mre11 のエンドヌクレアーゼ活性が数 10 倍上昇することが分かった。一方で、非リン酸化 Ctp1 を用いた場合、過剰量の Ctp1 を添加すると(MRN に対して 1000 倍以上の Ctp1 量)、Mre11 エンドヌクレアーゼの活性化が観察された。この結果は、リン酸化による MRN-Ctp1 複合体形成はエンドヌクレアーゼの活性化に導くが、Ctp1 のリン酸化そのものはエンドヌクレアーゼの活性化には直接関与しないことを示唆している。

次に、様々な Ctp1 の短縮変異体を用いて、Mre11 エンドヌクレアーゼの活性化に必要な領域を求めたところ、Ctp1 の C 末端の 15 アミノ酸がその活性化に必須の働きをしていることが分かった。

以上のことから、Ctp1 が CK2 によってリン酸化され、Nbs1 を介して MRN と複合体を形成すると、Ctp1 の C 末端が作用して Mre11 のエンドヌクレアーゼを活性化するという反応モデルを提唱した。

##### (2) 分裂酵母 Rad51 による DNA 鎖交換反応の解析

FRET を利用したリアルタイムアッセイ系で DNA 鎖交換反応を解析した。図 4 には、Swi5-Sfr1 存在下で Rad51 による DNA 鎖交換反応をリアルタイム対合アッセイによって解析した代表的な結果を示している。蛍光強度を 1 秒毎に測定し赤でプロットした。これを、DynaFit を用いてシミュレーションした理論曲線を青色で示した。その結果、Rad51 による DNA 鎖交換反応は、次の反応式で示す、3 ステップで進行することを明らかにした。Swi5-Sfr1 は、K2 と K3 のステップを促進することが分かった。



- [A]=[酵素・単鎖 DNA 複合体]
- [B]=[相同 DNA]
- [C1]=[中間体 1]
- [C2]=[中間体 2]
- [D]=[放出された 一本鎖 DNA]
- [E]=[ヘテロ二重鎖 DNA]

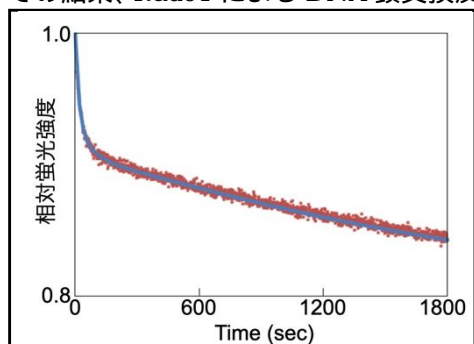


図4 対合アッセイの代表的な結果. 赤の点は実測値。これをシミュレーションし、理論曲線を青色で示した。

さらに、K1 ステップでは ATP の結合、K2 及び K3 では ATP の加水分解が必要なことが分かった。また、以前に、 $Mg^{++}$  イオンの代わりに  $Ca^{++}$  イオンを用いることで DNA 鎖交換反応がより促進されるという報告があったが、これは、 $Ca^{++}$  イオンによって ATP 加水分解が無くても K2 ステップが効率よく進行するためであることが分かった。

C1 中間体と C2 中間体の構造を解析したところ、C1 ではドナー二重鎖 DNA は対合状態を保ったままでプレシナプティックフィラメント中の ssDNA と並んで配置しているが、C2 では、ドナー二重鎖 DNA の相補鎖とプレシナプティックフィラメント中の ssDNA が対合しヘテロ二重鎖を形成していることが判明した。

Rad51 はサイト 1 とサイト 2 とよばれる DNA 結合部位がある。さらに、サイト 1 には、ループ構造が 2 カ所あり、ループ 1 とループ 2 がプレシナプティックフィラメント中の ssDNA を挟み込む構造が提唱されている(図 5)。しかし、これらの DNA 結合モチーフが、実際にどのように DNA 鎖交換反応を進行させるのか、全く不明であった。そこで、我々は、それぞれのモチーフで保存されているアミノ酸をアラニンに置換したミュータントを作製して、FRET を利用したリアルタイムアッセイによって解析した。その結果、(1) Rad51 プレシナプティックフィラメント複合体は、Rad51 のサイト 2 を用いて二重鎖 DNA を捕捉し、C1 中間体が形成される(2) ループ 1 が二重鎖 DNA と結合することによって、C1 中間体が形成・安定化される(3) 相同 DNA 配列が見つかったと、ループ 2 によって DNA 鎖交換が促進され、C1 中間体から C2 中間体へ遷移する、の 3 つのメカニズムが明らかになった(図 6)。また、これを基に構造モデルを構築して、活性中心を形成するアミノ酸残基と DNA 鎖の動きを予測した(図 7)。

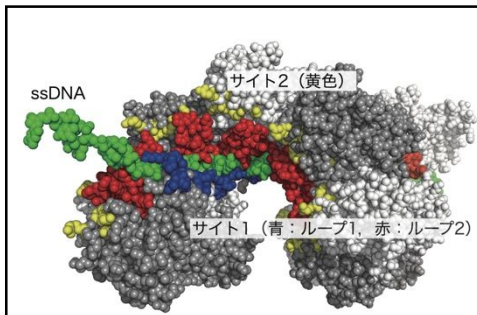


図 5 .Rad51 プレシナプティックフィラメントの立体構造モデル . 一分子の Rad51 は、白、または、灰色の球を用いて、空間充填モデルで表した。それぞれの分子のなかで、サイト 1 中のループ 1 は青色、ループ 2 を赤、サイト 2 は黄色で表した。1 本鎖 DNA (緑色)はループ 1 と 2 で挟まれている。

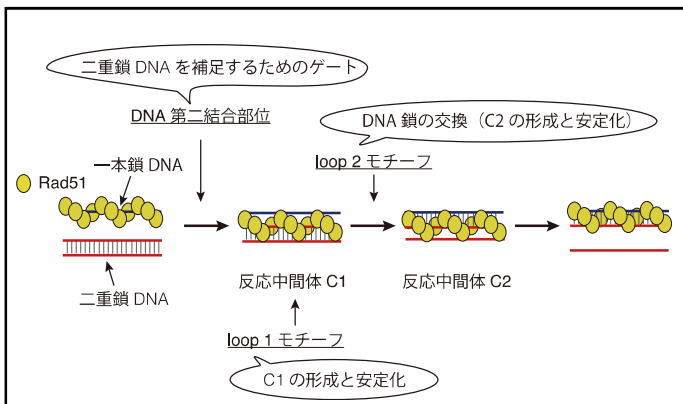


図 6 .DNA 鎖交換反応における Rad51 リコンビナーゼの DNA 結合モチーフの役割 .

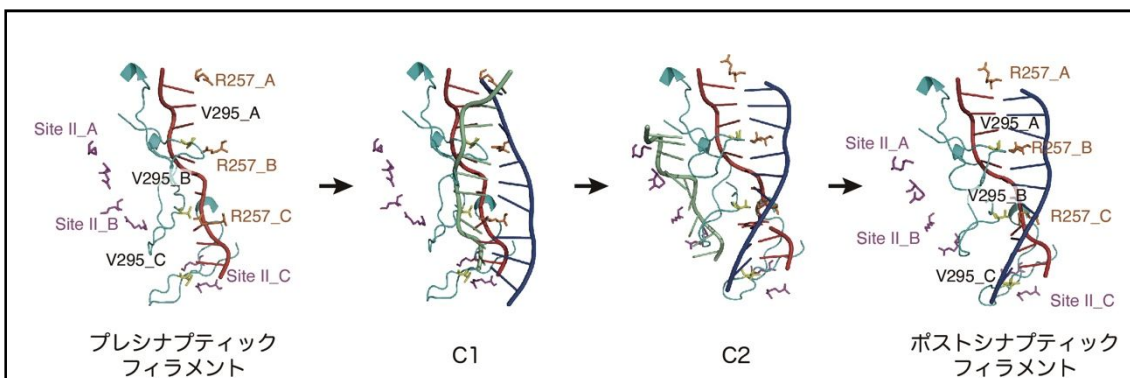


図 7 .Rad51 による DNA 鎖交換反応の分子機構 .ループ 1 の R257、ループ 2 の V295 は各種 Rad51 に高度に保存されているアミノ酸残基である。Rad51 の 3 個の単量体を A, B, C と表した。プレシナプティックフィラメントが 2 重鎖 DNA (青と緑の鎖からなる二重鎖) を捕捉し、最初の C1 複合体を形成する。その後、鎖を交換してヘテロ二重鎖 (赤と青の鎖からなる二重鎖) を含む C2 複合体ができ、最終的に、1 本鎖 DNA (緑) を放出して、Rad51・二重鎖 DNA フィラメント (ポストシナプティックフィラメント) が形成される。ポストシナプティックフィラメントのヘテロ二重鎖 DNA の中に V295 が刺さり、この構造を安定化している。

### (3) Swi5-Sfr1 タンパク質複合体と Rad51 の相互作用

Swi5-Sfr1 タンパク質複合体は、Sfr1 の N 末端を介して、Rad51 と相互作用する。今回、NMR と *in vivo* クロスリンクング法を用いて、Rad51 との相互作用に關与する Sfr1 上のアミノ酸残基を同定した。次に、特に相互作用が強い 7 残基について、アラニンに置換した変異体 Sfr1-7A を作製し、その特徴を *in vitro* で解析したところ、Rad51 との相互作用を示さず、その結果、Rad51 の DNA 鎖交換反応を活性化することはなかった。しかし、変異型遺伝子を分裂酵母細胞内に戻して、その DNA 修復能を解析すると、ほとんど欠損を示さなかった。ところが、一方で、*rad57* 欠損との二重変異株 (*rad57D sfr1-7A*) は *rad57D sfr1D* 二重変異株と同様、高い DNA 損傷感受性を示した。このことは、Sfr1-7A の Rad51 相互作用の欠損は、Rad57 が存在すると抑制されることを示唆している。実際、部分精製した標品を用いて、Swi5-Sfr1 と Rad55-Rad57 複合体が相互作用することを示した。これらの事実から、細胞内では、Rad55-Rad57 と Swi5-Sfr1 が複合体を形成して、Rad51 の DNA 鎖交換反応を補助するという新しいモデルを提唱した。

### (4) 分裂酵母の接合型変換の分子機構解析

プログラムされた DSB の修復機構のモデルとして、接合型変換の分子機構を解析した。本研究期間の初期に、接合型変換に關与する遺伝子を網羅的に探索し、HULC や Set1C 複合体を形成する遺伝子群を見出した。接合型変換では *mat* 座のサイレンシングが重要な働きをしているので、これらのオープンクロマチン化に關与する遺伝子の關与は意外であった。これらの遺伝子がドナーの選択に關与していることを見出しており、更に詳細な解析を行っているところである。

接合型変換時の DNA 鎖交換反応では、Swi2-Swi5 複合体が Rad51 の補助因子として機能する。本研究期間中に、Swi2-Swi5 複合体を精製し、Rad51 に対する機能を解析した。その結果、Rad51 の DNA 鎖交換活性を上昇させる機能を見出した。現在、なぜ、接合型変換特異的に働くのか等などについて、様々な方法を用いて解析しているところである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Ito K, Murayama Y, Kurokawa Y, Kanamaru S, Kokabu Y, Maki T, Argunhan B, Tsubouchi H, Ikeguchi M, Takahashi M, Iwasaki H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Real-time tracking reveals catalytic roles for the two DNA binding sites of Rad51.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2950
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-16750-3	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 Tsubouchi Hideo, Argunhan Bilge, Ito Kentaro, Takahashi Masayuki, Iwasaki Hiroshi	4. 巻 117
2. 論文標題 Two auxiliary factors promote Dmc1-driven DNA strand exchange via stepwise mechanisms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences USA	6. 最初と最後の頁 12062 ~ 12070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1917419117	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 Onaka Atsushi T., Su Jie, Katahira Yasuhiro, Tang Crystal, Zafar Faria, Aoki Keita, Kagawa Wataru, Niki Hironori, Iwasaki Hiroshi, Nakagawa Takuro	4. 巻 3
2. 論文標題 DNA replication machinery prevents Rad52-dependent single-strand annealing that leads to gross chromosomal rearrangements at centromeres	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-0934-0	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 Argunhan Bilge, Sakakura Masayoshi, Afshar Negar, Kurihara Misato, Ito Kentaro, Maki Takahisa, Kanamaru Shuji, Murayama Yasuto, Tsubouchi Hideo, Takahashi Masayuki, Takahashi Hideo, Iwasaki Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Cooperative interactions facilitate stimulation of Rad51 by the Swi5-Sfr1 auxiliary factor complex	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 :e52566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.52566	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 Ito Kentaro, Argunhan Bilge, Tsubouchi Hideo, Iwasaki Hiroshi	4. 巻 144
2. 論文標題 Real-time Observation of the DNA Strand Exchange Reaction Mediated by Rad51	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 e59073
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/59073	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 Kim Raeyeong, Kanamaru Shuji, Mikawa Tsutomu, Prevost Chantal, Ishii Kentaro, Ito Kentaro, Uchiyama Susumu, Oda Masayuki, Iwasaki Hiroshi, Kim Seog K, Takahashi Masayuki	4. 巻 46
2. 論文標題 RecA requires two molecules of Mg <sup>2+</sup> ions for its optimal strand exchange activity in vitro	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 2548 ~ 2559
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gky048	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 Maki Takahisa, Ogura Naoto, Haber James E, Iwasaki Hiroshi, Thon Genevieve	4. 巻 14
2. 論文標題 New insights into donor directionality of mating-type switching in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1007424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pgen.1007424	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 Lu Chih-Hao, Yeh Hsin-Yi, Su Guan-Chin, Ito Kentaro, Kurokawa Yumiko, Iwasaki Hiroshi, Chi Peter, Li Hung-Wen	4. 巻 115
2. 論文標題 Swi5-Sfr1 stimulates Rad51 recombinase filament assembly by modulating Rad51 dissociation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 E10059 ~ E10068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1812753115	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 Thon Genevive, Maki Takahisa, Haber James E, Iwasaki Hiroshi	4. 巻 65
2. 論文標題 Mating-type switching by homology-directed recombinational repair: a matter of choice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Genetics	6. 最初と最後の頁 351 ~ 362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00294-018-0900-2	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 Argunhan Bilge, Leung Wing Kit, Afshar Negar, Terentyev Yaroslav, Subramanian Vijayalakshmi V, Murayama Yasuto, Hochwagen Andreas, Iwasaki Hiroshi, Tsubouchi Tomomi, Tsubouchi Hideo	4. 巻 36
2. 論文標題 Fundamental cell cycle kinases collaborate to ensure timely destruction of the synaptonemal complex during meiosis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 2488 ~ 2509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.201695895	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 Asada Ryuta, Umeda Miki, Adachi Akira, Senmatsu Satoshi, Abe Takuya, Iwasaki Hiroshi, Ohta Kunihiro, Hoffman Charles S., Hirota Kouji	4. 巻 45
2. 論文標題 Recruitment and delivery of the fission yeast Rst2 transcription factor via a local genome structure counteracts repression by Tup1-family corepressors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 9361 ~ 9371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkx555	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 Ito Kentaro, Murayama Yasuto, Takahashi Masayuki, Iwasaki Hiroshi	4. 巻 25
2. 論文標題 Two three-strand intermediates are processed during Rad51-driven DNA strand exchange	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 29 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41594-017-0002-8	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 Murayama Yasuto, Samora Catarina P., Kurokawa Yumiko, Iwasaki Hiroshi, Uhlmann Frank	4. 巻 172
2. 論文標題 Establishment of DNA-DNA Interactions by the Cohesin Ring	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 465 ~ 477.e15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2017.12.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Jo Minji, Murayama Yasuto, Tsutsui Yasuhiro, Iwasaki Hiroshi	4. 巻 22
2. 論文標題 In vitro site-specific recombination mediated by the tyrosine recombinase XerA of Thermoplasma acidophilum	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 646 ~ 661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12503	査読の有無 無
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 Kobayashi Y, Misumi O, Odahara M, Ishibashi K, Hirono M, Hidaka K, Endo M, Sugiyama H, Iwasaki H, Kuroiwa T, Shikanai T, Nishimura Y.	4. 巻 356
2. 論文標題 Holliday junction resolvases mediate chloroplast nucleoid segregation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 631-634
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aan0038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Argunhan B, Murayama Y and Iwasaki H.	4. 巻 -
2. 論文標題 1.The Differentiated and Conserved Roles of Swi5-Sfr1 in Homologous Recombination.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 FEBS letter	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.12656.	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40件(うち招待講演 8件/うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 Activation of Mre11 endonuclease by Ctp1 in Schizosaccharomyces pombe
3. 学会等名 EMBO Workshop on Fission Yeast The 10th International Meeting (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Palihati Maierdan、坪内英生、梶谷嶺、韓龍雲、伊藤武彦、岩崎博史
2. 発表標題 BRCA2 homolog of Cryptococcus liquefaciens required for DNA repair
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真木孝尚、岩崎博史
2. 発表標題 分裂酵母Swift2-Swi5はRad51による試験管内DNA鎖交換反応を促進する
3. 学会等名 日本遺伝学会第91回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ZDRAVKOVIC ALEXANDAR、坪内英生、金丸周司、岩崎博史
2. 発表標題 Molecular mechanism of Ctp 1 mediated Mre11-Rad50-Nbs1 endonuclease activation in S.pombe
3. 学会等名 日本遺伝学会第91回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Alfredo Esquivel Chavez、Takahisa Maki、James E Habar、Genevieve Thon、Hideo Tsubouchi、Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 HULC-mediated open chromatin formation and controls of Mating-Type Switching in Fission Yeast
3. 学会等名 日本遺伝学会第91回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真木孝尚、岩崎博史
2. 発表標題 分裂酵母の接合型変換因子Swi2-Swi5複合体はRad51依存的試験管内鎖交換反応を促進する
3. 学会等名 第25回DNA複製・組換え・修復ワークショップ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷口 剛樹, Bilge Argunhan, 岩崎 博史, 坪内 英生
2. 発表標題 減数分裂期特異的相同組換え酵素Dmc1は体細胞分裂期に機能を持つか？
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Negar Afshar, Bilge Argunhan, Kentaro Ito, Mardan Parhat, Hideo Tsubouchi, Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 Pathways of DNA repair by Rad51-mediated homologous recombination in Schizosaccharomyces pombe
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 Activation of Mre11 endonuclease by Ctp1 in <i>S pombe</i>
3. 学会等名 Chromosome Dynamics An international symposium on chromatin and chromosome stability (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真木孝尚、小倉尚人、 James E. Haber、 Genevieve Thon、 岩崎博史
2. 発表標題 New regulation model of mating-type switching in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>
3. 学会等名 日本遺伝学会 第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Maki T, Ogura N, Haber, JE, Thon G, Iwasaki H
2. 発表標題 H3K4 methyltransferase Set1C plays a role in donor preference of mating-type switching in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>
3. 学会等名 The 11th 3R+3C Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Argunhan B, Afshar N, Ito K, Maki T, Kurihara M, Sakakura M, Tsubouchi H, Takahashi H, Iwasaki H
2. 発表標題 Rad51 Interaction Analysis Reveals a Functional Interplay Among Recombination Auxiliary Factors
3. 学会等名 The 11th 3R+3C Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsubouchi H, Ito K, Argunhan B, Iwasaki H.
2. 発表標題 Synergistic Activation of Dmc1 by the Sfr1-Swi5 and Meu13-Mcp7 Complexes
3. 学会等名 The 11th 3R+3C Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ito K and Iwasaki H
2. 発表標題 The L2 loop of Rad51 plays a critical role in forming an intermediate containing heteroduplex in DNA strand exchange reaction.
3. 学会等名 The 11th 3R+3C Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Zdravkovic A, Tsubouchi H, Iwasaki H
2. 発表標題 Phosphorylation-dependent Ctp1 binding to Nbs1 in vitro
3. 学会等名 The 11th 3R+3C Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Lu C-H, Yeh H-Y, Su G-C, Ito K, Kurokawa Y, Iwasaki H, Chi P, Li H-W.
2. 発表標題 Swi5-Sfr1 stimulates Rad51 recombinase filament assembly by modulating Rad51 dissociation.
3. 学会等名 The 11th 3R+3C Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 遠藤 伶奈、伊藤 健太郎、Bilge Argunhan、真木 孝尚、坪内 英生、岩崎 博史
2. 発表標題 DNA鎖交換反応におけるDmc1リコンビナーゼのL2ループ上のPro-267残基の役割
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hroshi Iwasaki
2. 発表標題 Kinetics of DNA strand exchange mediated by Rad51, a central reaction of homologous recombination
3. 学会等名 2018 Mini-Symposium on Chromosome Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Palihati M, Tsubouchi H, Han Y -W, Ito T Iwasaki H
2. 発表標題 BRCA2 homolog from <i>Cyptococcus liquefaciens</i>
3. 学会等名 第1回日本遺伝学会春季分科会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Zdravkovic A, Tsubouchi H, Kanamaru S, Iwasaki H
2. 発表標題 Activation of Mre11 endonuclease by Ctp1
3. 学会等名 第1回日本遺伝学会春季分科会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chavez EA, Maki T, Tsubouchi H, Iwasaki H
2. 発表標題 HULC regulates Mating-Type Switching
3. 学会等名 第1回日本遺伝学会春季分科会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahisa Maki, Naoto Ogura, Genevieve Thon and Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 A Genome-Wide Screening for Mating-Type Switching Defective Mutants of Schizosaccharomyces pombe
3. 学会等名 The 9th International Fission Yeast Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤 健太郎、村山 泰斗、高橋 正行、岩崎 博史
2. 発表標題 分裂酵母 Swi5-Sfr1 複合体による Rad51 依存的 DNA 鎖 交換反応の促進機序
3. 学会等名 日本遺伝学会第89回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 坪内英生、Bilge Argunhan、岩崎博史、坪内知美
2. 発表標題 減数分裂特異的に相同染色体間の接着を媒介するメカニズムとその制御
3. 学会等名 第24回DNA複製・組換え・修復ワークショップ
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 真木孝尚、小倉尚人、Genevieve Thon、岩崎博史
2. 発表標題 分裂酵母の接合型変換の分子機構モデル
3. 学会等名 第24回DNA複製・組換え・修復ワークショップ
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小倉尚人、真木孝尚、Genevieve Thon、岩崎博史
2. 発表標題 分裂酵母の接合型変換にかかわる遺伝子の網羅的同定
3. 学会等名 第24回DNA複製・組換え・修復ワークショップ
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 原口 敬介、伊藤 健太郎、黒川 裕美子、坪内 英生、岩崎 博史
2. 発表標題 活性化因子Swi5-Sfr1との相互作用に重要な分裂酵母Rad51リコンビナーゼのアミノ酸残基の解析
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 末續 美優、黒川 裕美子、伊藤 健太郎、坪内 英生、岩崎 博史
2. 発表標題 DNA鎖交換反応における分裂酵母Dmc1リコンビナーゼの二重鎖DNA結合の分子機構
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 真木孝尚、小倉尚人、Genevieve Thon、岩崎博史
2. 発表標題 分裂酵母の接合型変換に関わるヘテロクロマチン形成機構モデル
3. 学会等名 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
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 Real-time analysis of Rad51-mediated DNA strand exchange activation by Swi5-Sfr1 complex
3. 学会等名 Abcam conference: Mechanisms of Recombination (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 岩崎博史
2. 発表標題 分裂酵母の接合型変換の分子機構
3. 学会等名 第68回日本細胞生物学会大会：シンポジウム「染色体諸機能の連携と機能統合体としての理解」(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 伊藤 健太郎、村山 泰斗、高橋 正行、岩崎 博史
2. 発表標題 分裂酵母Rad51依存的DNA鎖交換反応 のリアルタイム解析
3. 学会等名 第88回日本遺伝学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 岩崎博史
2. 発表標題 DNA鎖交換反応のリアルタイム解析
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会：シンポジウム「ゲノムの維持と継承を制御するタンパク質と核酸の相互作用」（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 Post-synaptic roles of Swi5-Sfr1 in DNA strand exchange
3. 学会等名 Protein-DNA complexes in homologous recombination at Szent-Gyorgyi Day of the hungarian protein and medicinal community (MedinProt) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 Genetic dissection of the Rad51 Interfaces to recombinases activator proteins
3. 学会等名 2015 International RecA and chromosome biology conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 岩崎博史、伊藤健太郎、筒井康博、黒川裕美子、村山泰斗、高橋正行
2. 発表標題 分裂酵母Rad51リコンビナーゼとその活性化因子Swi5-Sfr1、及び、Rad55-Rad57複合体との相互作用
3. 学会等名 日本遺伝学会第87回大会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Minji Jo, Yasuhiro Tsutsui, Hiroshi Iwasaki
2. 発表標題 Molecular analysis of the site-specific recombination mediated by XerA from <i>Thermoplasma acidophilum</i>
3. 学会等名 日本遺伝学会第87回大会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 石毛大輔、毛谷村賢司、長谷川ゆき、岩崎博史、菱田卓
2. 発表標題 出芽酵母における複製ストレス応答に関わる新たな因子の探索
3. 学会等名 日本遺伝学会第87回大会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 黒川裕美子、寺田行宏、真木孝尚、伊藤健太郎、村山泰斗、筒井康博、Takahashi Masayuki、岩崎博史
2. 発表標題 Ca <sup>2+</sup> イオンによる分裂酵母Dmc1 リコンビナーゼ依存的DNA 鎖交換反応活性化のメカニズム
3. 学会等名 第23回DNA複製・組換え・修復ワークショップ
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 真木孝尚、黒川裕美子、伊藤健太郎、村山泰斗、Masayuki Takahashi、岩崎博史
2. 発表標題 Ca <sup>2+</sup> は分裂酵母のRad51 とDmc1 に対して異なる作用を示す
3. 学会等名 第23回DNA複製・組換え・修復ワークショップ
4. 発表年 2015年

## 〔図書〕 計1件

1. 著者名 岩崎 博史、岩崎 博史、池上 彰、田口 英樹	4. 発行年 2016年
2. 出版社 朝日新聞	5. 総ページ数 246
3. 書名 池上彰が聞いてわかった生命のしくみ	

## 〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 遺伝性乳癌卵巣癌症候群の治療薬のスクリーニング方法	発明者 岩崎博史、坪内英生、伊藤武彦、梶谷嶺、マルダン、韓龍	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2018-77857	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 MRN複合体のエンドヌクレアーゼ活性化上昇剤及びその使用	発明者 岩崎博史、坪内英生、ゾドラブコビッチ アレキサンダー	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2019 - 77613	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

## 〔取得〕 計0件

## 〔その他〕

<a href="http://www.iwasakilab.bio.titech.ac.jp">http://www.iwasakilab.bio.titech.ac.jp</a> 岩崎研究室 <a href="http://www.iwasakilab.bio.titech.ac.jp">http://www.iwasakilab.bio.titech.ac.jp</a>
---

## 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
研究協力者	伊藤 健太郎  (Ito Kentaro)		