

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26241013

研究課題名(和文) 遺伝子改変マウスを用いたNBS1蛋白C末ドメインによるゲノム安定化機構の解析

研究課題名(英文) Role of NBS1 C-terminal domain in genomic stability

研究代表者

小松 賢志 (Komatsu, Kenshi)

京都大学・放射線生物研究センター・研究員

研究者番号：80124577

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々は放射線高感受性遺伝病Nijmegen breakage syndromeの原因遺伝子NBS1を1998年に単離、続いてNBS1タンパク質のC末側に放射線照射後のゲノム安定化に重要な幾つかの機能ドメインが存在することを発見した。本研究ではこのなかでRNF20結合ドメインが放射線治療で用いられる低線量照射での放射線抵抗性にかかわること、そしてRAD18結合ドメインの突然変異発生や発がん性について解析した。さらに、C末側領域および中央領域に2種類の新規ドメインを発見した。CRISPRを用いた解析からそれぞれ非相同末端再結合とDNA複製フォークが停止した時に働くドメインであることが示された。

研究成果の概要(英文)：We had reported several functional domains at the C-termina of NBS1, which was identified as a protein responsible for radiation sensitive disease, Nijmegen breakage syndrome, by us in 1998. The functional roles of these domains were analyzed by using the cells lacking the specified domain or knock-in mice, which revealed the association with the radiation resistance at low dose irradiation in radiation therapy and with the genome instability, such as mutagenesis and carcinogenesis. Moreover, we found two novel functional domains in the C-terminal region and middle region, respectively. Analysis using CRISPR technique indicated their functional roles in non-homologous end-joining for radiation-induced DNA double strand breaks and also in another genome stability.

研究分野：放射線生物学

キーワード：NBS1 クロマチン・リモデリング 損傷乗越えDNA合成 非相同末端再結合 ドメイン解析

## 1. 研究開始当初の背景

ナイミーヘン症候群は 1981 年 C. Weemaes によって報告された高発がん性と小頭症を特徴とする放射線高感受性のヒト劣性遺伝病である。患者細胞は電離放射線（以下、放射線）に対する高感受性と細胞周期チェックポイント異常を呈することから、放射線による DNA 二重鎖切断の修復とゲノム安定化機構の解明に有力な研究材料を提供して来た。我々は、ポジショナルクローニングにより同疾患の原因遺伝子 NBS1 の同定に成功 (Nature Genetics, 1998)、さらにドメイン解析により NBS1 蛋白が C 末側で MRE11 と結合して DNA 二重鎖切断の相同組換え修復を行う事を明らかにした (Nature 2002)。また、英国のグループにより、C 末側突端で ATM と結合して DNA 二重鎖切断部位への ATM のリクルートによる細胞周期チェックポイントを制御する事が報告された。引き続き、我々はデータベース上で、さまざまな生物種の NBS1 アミノ酸配列を詳細に比較した結果、上記の ATM ならびに MRE11 と結合する領域以外にさらに三カ所の保存領域が存在する事を明らかにした。そのうち二ヶ所では、ユビキチンリガーゼ RNF20 と結合して放射線照射後のクロマチン・リモデリングを、またユビキチンリガーゼ RAD18 と結合して損傷乗り越え DNA 合成を制御することも明らかにした (それぞれ Molecular Cell, 2011 に 1 報ずつ)。このように NBS1 ドメイン解析は有力な方法であり、残された未知ドメインの機能ならびに新規ドメインの探索は放射線照射後のゲノム安定化機構を知る上で重要な知見を提供すると期待される。

## 2. 研究の目的

**【1】** NBS1 による DNA 修復とその調整経路の制御機構：我々が発見した NBS1 の RNF20 結合ドメインは主として相同組換えにおけるクロマチン・リモデリングの調整経路に機能することを報告した。しかし、放射線誘発の DNA 二重鎖切断は主に非相同末端再結合で修復することが知られているので、RNF20 機能の見地から、この矛盾の解明と相同組換え修復の放射線生物学的役割を解析する。また、生物種を通じて保存されているが、機能が不明なまま残された C 末側ドメイン、ならびにその他の新規ドメインを探索してそのゲノム安定化における役割を解析する。**【2】** 中心体維持機構と小頭症：ナイミーヘン症候群の患者は程度の差こそあれ、一様に小頭症を呈する。一方、放射線の胎内被ばくにより高頻度で小頭症を発症する（原爆小頭症として知られる）ことが報告されているがその発症機序は現在まで不明である。我々は NBS1 が欠損すると細胞内  $\gamma$  チューブリンのユビキチン化が低下して中心体数が正常の 2 個より

増加することを報告したので (Cancer Res. 2009)、マウス大脳の中心体数に注目して放射線小頭症の発症機序を解明する。**【3】** ゲノム安定化と放射線発がん：ナイミーヘン症候群の患者細胞はゲノム不安定化を示すので、患者に見られる高発がん性はこの不安定化が原因と見なされている。そこで、RAD18 結合ドメインの NBS1 ノックインマウスを用いて、突然変異誘発およびリンパ腫を中心とする放射線誘発がんを測定して、放射線照射後のゲノム安定化における NBS1 の役割を個体レベルで明らかにする。

## 3. 研究の方法

毛細血管拡張性運動失調症とナイミーヘン症候群は放射線高感受性の 2 大疾患である。毛細血管拡張性運動失調症はその原因遺伝子 ATM がクローニングされ、その成果に基づいて作製された *Atm* ノックアウトマウスは DNA 修復機構、発がん抑制、神経発生、老化、抗酸化作用など ATM が関連する多くの生体維持機能の解明に役立ってきた。しかし、残念ながら *Atm* と違って *Nbs1* ノックアウトマウスは胎生致死である。最近、我々が試験的に NBS1 の RAD18 結合ドメインのノックインマウスを作製したところ、このマウスは生存可能であり、ノックインマウス同士の交配で繁殖も可能であった。そこで本研究ではこのノックインマウス、ならびに近年進展著しいゲノム編集技術の CRISPR-Cas9 法 (平成 27 年実績報告書記載) を用いた NBS1 結合ドメイン欠変異体を用いて、ゲノム安定化におけるそれぞれの結合ドメインの役割を解析する。

**【1】** NBS1 による DNA 修復とその調整経路の制御機構：相同組換えと非相同末端再結合の各種細胞条件での活性を測定するために、相同組換えレポーター遺伝子 DR-GFP ならびに非相同末端再結合遺伝子 pEJ を導入したヒト細胞 HeLa と U2OS を作製した。測定には、DNA 二重鎖切断を発生させる制限酵素 IScel を発現する pCBASce プラスミドを細胞に一過性に導入後、30 時間経てから発現する GFP 量を FACSCalibur フローサイトメーターで定量した。細胞同調は 2mM チミジンをを用いた二段階チミジンブロック法で行い S 期および G2 期細胞はそれぞれ PCNA と CENPF 抗体を用いた免疫染色で確認した。また、DNA 複製能はチミジンアナログ EdU 10  $\mu$ M を 10 分間取り込ませた細胞の PCNA 抗体との二重免疫染色により定量した。一方、クロマチン・リモデリング能は上述の DR-GFP 導入細胞に 50  $\mu$ gPCBASce を発現して 4 時間後に発生した DNA 二重鎖切断部位のヒストン量から定量した。具体的には、pCBASce 処理した細胞をフォルムアルデヒド処理後に超音波処理、そしてヒストン H2B 抗体で沈殿した DNA 量を、DNA 二重鎖切断部位からの距離に依

じた3種類のPCRプライマーセットで定量した。また、制限酵素 I-SceI 誘発の DNA 二重鎖切断部位でのクロマチン・リモデリング結果を放射線誘発 DNA 二重鎖切断部位で確認するために、GFP 標識したヒストン H2B を導入した細胞を FRAP 法により解析した。具体的には、放射線照射により発生した DNA 二重鎖切断部位で発生する 53BP1 フォーカス部位を、405-nm レーザーでブリーチング後に再結集する GFP 標識ヒストン H2B 量を経時的に測定した。

NBS1 の C 末端の ATM 結合ドメインと MRE11 結合ドメインの間に存在する、我々が発見した生物種を通じて保存された領域を欠失したヒト U2OS 細胞を CRISPR-Cas9 システムで作製した。続いて Myc 標識の野性型 NBS1 またはドメイン 4 欠失 NBS1 をそれぞれ導入した安定発現株を樹立、両樹立細胞の放射線とマイトマイシン C (MMC) に対する致死感受性、DR-GFP および pEJ レポーター遺伝子を用いた相同組換え修復および非相同末端再結合能の定量、NBS1 抗体を用いた免疫染色により放射線照射後の NBS1 フォーカス形成能を調べた。さらに本領域に特異的に結合するタンパク質を調べるために、FLAG 標識の野性型 NBS1 またはドメイン 4 欠失 NBS1 を導入して FLAG で免疫沈殿して電気泳動、銀染色を行った。また、NBS1 の未知の機能ドメインを探索するために、NBS1 抗体を用いた免疫染色により放射線に加えて紫外線、シスプラチン、カンプトテシン、マイトマイシン C 処理後の NBS1 フォーカス形成能を調べた。続いて CRISPR-Cas9 システムで作製した NBS1 の各領域欠失変異体を作製してこれらのフォーカス形成能に必要な領域を探索した。さらにフォーカス形成に必要な領域の致死感受性および相同組換え能を上述の方法により定量した。同様に、FLAG 標識の野性型 NBS1 と当該領域欠失 NBS1 を導入して FLAG で免疫沈殿して電気泳動、銀染色により領域特異的に結合するタンパク質を探索した。

**[2]** 中心体維持機構と小頭症：妊娠した ICR マウスを胎仔が受精 1.3 日 (ヒト胎児 9~15 週に相当) で 1Gy および 2Gy 照射した。照射後 12 時間および 24 時間の胎仔大脳のニューロン細胞数およびニューロン前駆細胞はそれぞれ Tuj1 および Tbr2 抗体を用いた大脳組織の免疫染色により定量した。また、ニューロン前駆細胞の中心体数は  $\gamma$  チューブリン抗体、増殖細胞数はヒストン H3 リン酸化抗体、そしてアポトーシス細胞はカスパーゼ 3 および  $\gamma$ -H2AX を用いた大脳皮質組織の染色で求めた。小頭症の判定は照射胎仔の生後 0.5 日の大脳重量および Brn1 と Foxp2 抗体を用いた胎仔大脳皮質の厚さから定量した。

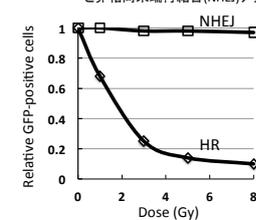
**[3]** ゲノム安定化と放射線発がん：RAD18 結

合ドメインは 16 エキソンでコーディングされている。このうち種を通じて保存されているエキソン 13 とその前後の配列から構成されるターゲティングベクター DTA-long arm-(欠損: STOP コドン)-loxP-Neo-loxP-short arm (イントロン 12 と Exon 13 の coding region を削った 3' UTR の配列を含む領域) を C57BL/6 ES 細胞に導入する。ノックインした ES 細胞をマウス胚盤胞にインジェクションして C57BL/6 系統キメラマウスを作製、続いて交配により生殖系列に移行したマウスを選別してノックインマウスを作製した。この NBS1 ノックインマウスに muta マウスとの交配により lacZ レポーター遺伝子を導入して突然変異頻度を測定した。各種線量の UVB を照射 4 週間後にマウスの照射部皮膚表皮から抽出した DNA を lacZ と galE 遺伝子を欠失した細菌に取り込んで P-gal 選択法により変異 lacZ およびその頻度を検出した。一方、発がん実験は NBS1 ノックインマウス 12 匹とその野性型 C57BL/6 マウス 12 匹を SPF 環境で終生飼育を行い、死亡したマウスの病理解剖からその発がん性を検出した。

#### 4. 研究成果

**[1]** NBS1 による DNA 修復とその調整経路の制御機構：DNA 二重鎖切断の修復経路として非相同末端再結合と相同組換え修復の 2 種類が知られている。放射線誘発 DNA 二重鎖切断には非相同末端再結合が主流で相同組換え修復は重要でないとされているが、これが正しいかどうかを放射線量と DNA 複製停止の条件を変えて測定した。DR-GFP 相同組換え修復と pEJ 非相同末端再結合のそれぞれレポーター遺伝子を組み込んだ HeLa 細胞に制限酵素 I-SceI 制限酵素を発現する pCBASce プラスミドをトランスフェクション後、細胞を 1Gy から 8Gy 照射、その後 GFP 陽性細胞数を FACS でカウントした。その結果、相同組換え能は放射線量に依存しており、8Gy 照射では非照射の 1/10 以下に低下することがわかった (図 1)。驚いたことに、非相同末端再結合はこのような放射線量依存性は見られず、8Gy 照射でも非照射と同程度の修復能を有していた。このことをさらに確認するために、DNA 二重鎖切断が起こる I-SceI 制限酵素部位での ChIP (クロマチン免疫沈降) を行った。相同組

図1 レポーター遺伝子による相同組換え修復(HR)と非相同末端再結合(NHEJ)アッセイ



換えの代表的な蛋白 RAD51 の抗体での DNA 量は、予想された様に切断部位の距離に応じて減弱、また放射線照射により大きく減少した。このことは放射線照射後の RAD51 フォーカス形成数でも確認できた。これに対して非相同

末端再結合の代表蛋白 Ku70 での ChIP では放射線量に応じた減少は見られず、レポーター遺伝子の結果を裏付けた。DNA 修復能の測定には通常 2Gy~10Gy の放射線照射するので相同組換え修復能が低下して非同相末端再結合が主流になる。しかし、放射線リスク推定や放射線治療で重要なそれ以下の放射線量では相同組換え修復が重要な寄与をしていることが判明した。

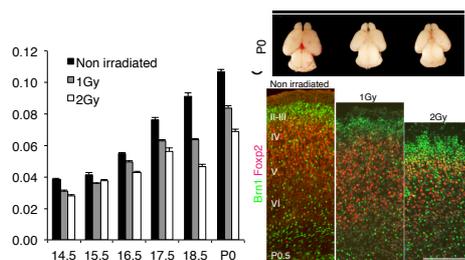
それでは何故、相同組換え修復は高線量で減少するのだろうか？相同組換えは S 期で活発であることが知られているので、S 期に同調した細胞を DNA 複製阻害剤アフィデコリンで処理したときの相同組換え修復能を測定した結果は大幅な修復能の低下を示した。このことは放射線照射による DNA 複製の低下が相同組換え能の減弱をもたらす可能性を示唆している。そこでチミジンアナログ EdU のパルスラベリングによる放射線照射後の DNA 複製能を定量した。その結果は、3Gy 照射では DNA 複製能が顕著に低下するが、0.5Gy 照射では DNA 複製が変わらず、上記の仮説を裏付けた。次に DNA 複製による相同組換え制御の分子機構を解明するために、DNA 二重鎖切断 I-SceI 部位でのヒストン H3 抗体を用いた ChIP 解析を行った。結果は、0.5Gy 照射では DNA 二重鎖切断部位からヒストン H2B の顕著な遊離が見られるのに対して、3Gy 照射では大幅に減弱した。このクロマチン・リモデリングの低下は、GFP 標識ヒストン H2B を導入した FRAP 解析でも確認できた。我々は既に、ユビキチンリガー RNF20 がヒストン H2B のユビキチンを介してクロマチン・リモデリングを起こすことを報告している (Mol Cell, 2011)。そこで、放射線 3Gy 照射後の H2B ユビキチン化を測定した結果、照射により有意に低下していることが確認された。結果として本研究で、放射線照射による DNA 複製の低下がクロマチン・リモデリングを阻害して相同組換え修復を放射線量依存的に減少させていることが明らかとなった。このことは、DNA 複製を停止させると相同組換え修復が起こらなくなり、その結果として細胞の放射線増感が可能になる。がんの放射線治療における同時放射線化学療法に汎用されているシスプラチンおよび 5-FU とともに DNA 複製阻害剤であることの生物学的根拠を与える研究成果である。

我々が発見した NBS1 の C 末端の ATM 結合領域と MRE11 結合領域に近接する生物種を通じて保存された領域の機能を調べる目的で、この領域を欠失した細胞を CRISPR-Cas9 法で作製した。当該領域欠失細胞は放射線に対して顕著に感受性であるが、マイトマイシン C には野性型と同程度の感受性を示した。このことは、相同組換え修復よりも非同相末端再結合に異常があることを示唆するので、DR-GFP および pEJ レポーター遺伝子を用いて解析した。予想されたように当該領域欠失細胞

は非同相末端再結合能の有意な低下を示したが、相同組換え能に異常はなかった。また、免疫沈降で両隣の ATM および MRE11 との結合、さらには NBS1 自体のフォーカス形成能を調べたがいずれも領域欠失による異常は見られなかった。本領域に特異的に結合するタンパク質を調べるために、FLAG 標識の野性型 NBS1 またはドメイン 4 欠失 NBS1 を導入後に免疫沈殿して結合蛋白を調べたが野性型と大きな違いは見られなかった。マウスベクトルなどを用いたさらに詳細な解析が必要である。NBS1 は放射線だけでなく紫外線、シスプラチン、カンプトテシン、マイトマイシン C 処理に対してもフォーカスを形成することが今回の研究で初めて示された。そこで、紫外線によるフォーカス形成能を指標に、CRISPR-Cas9 法で作製した NBS1 の各種欠失細胞をスクリーニングした結果、NBS1 中央付近の特定領域が紫外線フォーカス形成に必須であることが判明した。この領域は放射線照射後の NBS1 フォーカス形成に影響しないことから、DNA 修復とは別の機能を有していると思われる。実際、CRISPR-Cas9 法で作製した当該領域欠失は、染色体不安定性と DNA 複製の異常を示した。紫外線ならびに各種薬剤処理後の DNA 複製異常を正常化する NBS1 の新たな機能の可能性が示された。欠失細胞の NBS1 沈降蛋白の電気泳動および銀染色により、この領域特異的に結合する蛋白が存在するので、現在その解析を行っている。

【2】中心体維持機構と小頭症：我々は既に NBS1 欠損細胞では中心体数が増加することを報告した。この中心体数増加と NBS1 が異常な疾病 (ナイミーヘン症候群) 患者に見られる小頭症との関係をマウス実験で検証した。受精 13.5 日に放射線 1Gy ならびに 2Gy 照射したマウス大脳のニューロン前駆細胞を照射 48 時間後に  $\gamma$ -チューブリン抗体で染色すると、放射線線量に応じた多数の中心体異常が観測された。同時に中心体異常による細胞分裂の失敗と思われるアポトーシスも多数発生して、両者の合計は 1Gy 照射で全体の 54%、2Gy 照射で 81%にも達した。また、残っている細胞も本来増殖する位置から離れた異常な位置で増殖していることが示さ

図2. 1Gyおよび2Gy照射後のマウス脳重量と大脳皮質

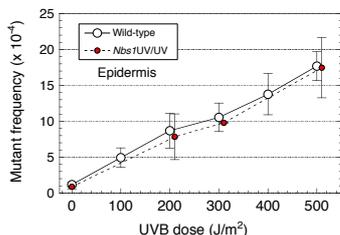


れた。この結果、ニューロン細胞、ニューロン前駆細胞ともに細胞数が激減して、大脳皮質特有のマーカー蛋白質、Brn1 (赤色) および Foxp2 (緑色) で組織染色した大脳皮質が

薄くなっていることが示された (図 2)。これにより、受精 13.5 日に放射線 1Gy ならびに 2Gy 照射したマウスの大脳重量を誕生直後 (P0) に測定すると非照射に比べて有意に小さく、いわゆる放射線小頭症を呈していることが分かる (図 2)。母親胎内に居るときの受精 14.5 日~18.5 日でもこの傾向は変わらず、小頭症が一旦発症すると回復されず持続することが分かる。我々の結果は、放射線小頭症がニューロン前駆細胞に起こる中心体異常を介して発症することを示しており、ナイミーヘン症候群患者の小頭症も NBS1 欠損による中心体異常の原因によることを強く示唆している。

**【3】ゲノム安定化と放射線発がん**：NBS1 の生存可能なノックインマウスは紫外線に高感受性な RAD18 結合ドメイン欠失のマウスである。このため、ゲノム安定性として紫外線照射後の lacZ 突然変異レポーター遺伝子における突然変異頻度を測定した。100J/mm<sup>2</sup>~100J/mm<sup>2</sup> の UVB を照射すると、雌雄差にかかわらず線量依存性に突然変異頻度が上昇した (図 3)。しかし、野性型の突然変異頻度とは有意な差が認められなかった。この正確な原因は不明であるが、NBS1 は DNA 複製におけるゲノム安定化にもかかわることからハイドロキウレアのような複製阻害剤を用いるべきだったと思われる。

図3. NBS1ノックインマウスの誘発突然変異頻度



720 日齢の雌の発がん実験では、ノックインマウスが 12 匹中 1 匹、ヘテロマウスで 12 匹中

1 匹、最高齢 1011 日齢の野性型で 22 匹中 11 匹死亡した。死亡原因は悪性リンパ腫 6 例、肝腫瘍 2 例、肺腫瘍 1 例で、その他 2 匹の死亡原因は不明である。雄では、687 日齢のノックインマウスでは 12 匹中 2 匹死亡、722 日齢ヘテロマウスで 12 匹中 1 匹死亡、最高齢 947 日例の野性型では 21 匹中 10 匹死亡した。死因は悪性リンパ腫 3 例、肝腫瘍 2 例、肺腫瘍 2 例、回腸弛緩 1 例、その他 3 匹は不明である。全体として死亡数が少なく結論を言えない状況である。これは、ノックインマウスの繁殖のために二回にわたって実験を行ったこと、そしてノックインマウスが予想よりはるかに長命であったことが原因である。今後も最終結論が得られるまで、実験を継続する予定である。

##### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 17 件)

①Nagashima H., Shiraiishi K., Ohkawa S., Sakamoto, Y., Komatsu K., Matsuura S., Tachibana A., Tauchi H., Induction of somatic mutations by low dose X-rays: the challenge in recognizing

radiation-induced events. J. Radiat. Res.59, ii11-ii17, 2018. 査読有. doi: 10.1093/jrr/rxx053

②Miyamoto T, Akutsu SN, Tauchi H., Kudo Y, Tashiro S, Yamamoto T, Matsuura S. Exploration of genetic basis underlying individual differences in radiosensitivity with human populations using genome editing technology. J Rad Res (Supplement) 1-8, 2018. 査読有. doi: 10.1093/jrr/rxy007

③Shimura T, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K, Kobayashi J., Komatsu K., Kunugita N. ATM-mediated mitochondrial damage response triggered by nuclear DNA damage in normal human lung fibroblasts. Cell Cycle. 16:2345-2354. 2017. 査読有. doi: 10.1080/15384101.2017.1387697.

④ Igarashi K, Kobayashi J., Katsumura T, Urushihara Y, Hida K, Watanabe-Asaka T, Oota H, Oda S, Mitani H. An Approach to Elucidate NBS1 Function in DNA Repair Using Frequent Nonsynonymous Polymorphism in Wild Medaka (*Oryzias latipes*) Populations. PLoS One. 12:e0170006: 2017. 査読有. doi: 10.1371/journal.pone.0170006.

⑤Royba E, Miyamoto T, Natsuko Akutsu S, Hosoba K, Tauchi H., Kudo Y, Tashiro S, Yamamoto T, Matsuura S. Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells. Sci Rep., 20;7(1):5996, 2017 査読有. doi: 10.1038/s41598-017-06393-8

⑥Shimada M, Matsuzaki F, Kato A, Kobayashi J., Matsumoto T, Komatsu K. Induction of Excess Centrosomes in Neural Progenitor Cells during the Development of Radiation-Induced Microcephaly. PLoS One. 11:e0158236. 2016. 査読有. doi: 10.1371/journal.pone.0158236

⑦Komatsu K. NBS1 and multiple regulations of DNA damage response. J Radiat Res. Suppl 1:ii11-ii17. 2016. 査読有. doi: 10.1093/jrr/rww031

⑧Shimura T, Kobayashi J., Komatsu K., Kunugita N. Severe mitochondrial damage associated with low-dose radiation sensitivity in ATM- and NBS1-deficient cells. Cell Cycle. 15:1099-1107. 2016. 査読有. doi: 10.1080/15384101.2016.1156276

⑨ Yuichiro Saito and Kenshi Komatsu. Functional role of NBS1 in radiation damage response and translesion DNA synthesis. Biomolecules 5:1990-2002, 2015. 査読有. doi: 10.3390/biom5031990

⑩ Akihiro Kato and Kenshi Komatsu. RNF20-SNF2H pathway of chromatin relaxation in DNA double-strand break repair. Genes, 6:592-606, 2015. 査読有. doi: 10.3390/genes6030592

⑪Hua NN., Kobayashi J., Omura M., Hirakawa M., Yang SH., Komatsu K., Paull TT., Takeda S., Sasanuma H. BRCA1 and CtIP are Both Required to Recruit Dna2 at Double-Strand Breaks in Homologous Recombination. PLoS One. 10(4):e0124495, 2015. 査読有. doi: 10.1371/journal.pone.0124495

⑫Miyamoto T, Hosoba K, Ochiai H, Royba E, Izumi H, Sakuma T, Yamamoto T, Matsuura S. The microtubule depolymerizing activity of a mitotic kinesin protein KIF2A drives primary cilia disassembly coupled with cell proliferation. Cell Reports (2015) pii: S2211-1247(15)00004-2. 査読有. doi: 10.1016/j.celrep.2015.01.003

⑬Porazinski S, Wang H, Asaoka Y, Behrndt M, Miyamoto T, Morita H, Hata S, Sasaki T, Krens SF, Osada Y, Asaka S, Momoi A, Linton S, Miesfeld JB, Link BA, Senga T, Castillo-Morales A, Urrutia AO, Shimizu N, Nagase H, Matsuura S. Bagby S, Kondoh H, Nishina H, Heisenberg CP, Furutani-Seiki M. YAP is essential for tissue tension to ensure vertebrate 3D body shape. Nature (2015) 521, 217-221. 査読有. doi: 10.1038/nature14215

⑭Oji Y1, Tatsumi N, Kobayashi J. Fukuda M, Ueda T, Nakano E, Saito C, Shibata S, Sumikawa M, Fukushima H, Saito A, Hojo N, Suzuki M, Hoshikawa T, Shimura T, Morii E, Oka Y, Hosen N, Komatsu K. Sugiyama H. Wilms' tumor gene WT1 promotes homologous recombination-mediated DNA damage repair. Mol Carcinog. 2014. 査読有. doi: 10.1002/mc.22248.

⑮Maki Ohara, Yumi Funyu, Shunsuke Ebara, Yuki Sakamoto, Ryota Seki, Kenta Iijima, Akiko Ohishi, Junya Kobayashi, Kenshi Komatsu, Akira Tachibana, and Hiroshi Tauchi. Mutations in the FHA-domain of ectopically expressed NBS1 lead to Radiosensitization and to no increase in somatic mutation rates via a partial suppression of homologous recombination. J Radiat Res. 55:690-8, 2014. 査読有. doi: 10.1093/jrr/rru011

⑯Yoshida T, Awaya T, Shibata M, Kato T, Numabe H, Kobayashi K, Komatsu K. Heike T. Hypergonadotropic Hypogonadism and Hypersegmented Neutrophils in a Patient with Ataxia-Telangiectasia-Like Disorder: Potential Diagnostic Clues? Am J Med Genet A. 164A:1830-4, 2014. 査読有. doi: 10.1002/ajmg.a.36546.

⑰Ochiai H, Miyamoto T, Kanai A, Hosoba K, Sakuma T, Kudo Y, Asami K, Ogawa A, Watanabe A, Kajii T, Yamamoto T, Matsuura S. TALEN-mediated single-base-pair editing identification of an intergenic mutation upstream of BUB1B as causative of PCS (MVA) syndrome. Proc Natl Acad Sci USA (2014) 111, 1461-1466. 査読有. doi: 10.1073/pnas.1317008111.

[学会発表] (計 4件)

① K. Komatsu, Dual Roles of NBS1 in translesion DNA synthesis and response to Radiation damage. Zing Conference, Aug 1, 2015 (招待)

② K. Komatsu, Cloning of NBS1 and repair genes、ICRR2015, May 26, 2015 (招待)

③ K. Komatsu, Roles of NBS1 in homologous recombination and translesional DNA synthesis, RBC-CEA Workshop, April 9, 2014

④ 小松賢志、加藤晃弘、柳原啓見、斎藤裕一朗、周慧、小林純也：相同組換え修復と損傷乗越え DNA 合成における NBS1 蛋白の役割、2014年11月25日、日本分子生物学会 (招待)

[図書] (計 2件)

① 小松賢志、「現代人のための放射線生物学」、pp1-342、京都大学学術出版会、2017.

② 加藤晃弘、柳原啓見、小松賢志、Ni jmegen breakage syndrome(ナイミーヘン症候群)、「家族性腫瘍学」、日本臨床 73 巻増刊号 6, pp216-219, 2015年8月.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

ホームページ等

<http://house.rbc.kyoto-u.ac.jp/Genome/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小松 賢志 (KOMATSU Kenshi)

京都大学・放射線生物研究センター・研究員  
研究者番号：80124577

### (2) 研究分担者

田内 広 (TAUCHI, Hiroshi)

茨城大学・理学部・教授

研究者番号：70216597

小林 純也 (KOBAYASHI Junya)

京都大学・放射線生物研究センター・准教授  
研究者番号：30301302

加藤 晃弘 (KATO Akihiro)

東北医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：70423051

松浦 伸也 (MATSUURA SHINYA)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授

研究者番号：90274133

(3) 連携研究者 ( 0 )

(4) 研究協力者 ( 0 )