

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：82609

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23657081

研究課題名（和文）停止複製フォーク結合タンパク質による細胞内での複製フォークの安定化の試み

研究課題名（英文）Stabilization of stalled replication forks by fork-binding proteins

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・基盤技術研究センター長

研究者番号：40229349

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円、（間接経費） 900,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では大腸菌において、停止した複製フォークに結合し安定化するPriAを用いて、真核細胞の停止複製フォークの安定化を促進する新規技術を開発する。まずPriAタンパク質に対する特異抗体を作製し、ChIP-on-chipにより停止フォークを特異的に検出する方法を確立した。次に、分裂酵母においてPriAタンパクを発現し、複製フォークをHUで停止し、PriAによりChIPを行った結果、複製起点近傍への集積が観察された。現在種々の変異体で、PriAを発現し複製フォーク停止時に複製フォークの安定化が観察されるかどうかをRPAの結合による一本鎖DNA領域の検出により検討している。

研究成果の概要（英文）：We previously showed that *E. coli* PriA protein, in collaboration with RecG, specifically binds and can stabilize an arrested replication fork. In this proposal we attempted to stabilize stalled replication forks in eukaryotic cells by utilizing these two proteins. We first developed an antibody against PriA and showed that stalled replication forks can be detected by ChIP-chip analyses. In response to fork arrest treatment, PriA bound to oriC in the wild-type cells, whereas it bound to the terC region under the condition where oriC is not functional. We then expressed PriA in fission yeast cells, examined its binding to chromatin. PriA was enriched near the replication origins. We are now expressing PriA in various mutant cells, and will examine if PriA can stabilize the fork by measuring the length of SSB coated single-strand.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：PriAタンパク質 複製フォーク 複製ストレス RecGタンパク質 チェックポイント応答 染色体脆弱部位 DNA結合タンパク質 染色体不安定性症候群

## 1. 研究開始当初の背景

ゲノム複製の過程では、DNA の損傷、塩基の修飾、鋳型 DNA 上の二次構造、他のタンパク質の結合、ヌクレオチド前駆体の枯渇など種々の原因により複製フォークが停止あるいは進行阻害される。細胞は停止した複製フォークを迅速に認識し適切に安定化し、崩壊や DNA の切断を防ぐ。真核細胞では、ATR-Claspin-Chk1 の経路が主に停止複製フォークのプロセッシングに関与する。この経路に関連する因子の変異は、染色体不安定性症候群の原因になることがすでに明らかになっていることから、ゲノム安定性の維持にとって停止複製フォークの安定化と適切なプロセッシングがきわめて重要であることがわかる。

この過程に異常が生じると、複製フォークは DNA 合成を伴わない異常な巻き戻しを誘導し一本鎖部分を蓄積する。蓄積した一本鎖領域は不安定であり種々のヌクレアーゼの攻撃を受けやすく、やがて複製フォークの崩壊につながる。したがって停止した複製フォークは認識された後、安定化され異常な巻き戻しを防ぐ。

大腸菌でも、停止複製フォークは迅速に認識される必要があるが、申請者はこの過程に PriA と RecG という二種類のヘリカーゼが関与することを見出してきた。細菌では複製起点は一カ所であるので、停止複製フォークは再開始される必要がある。PriA は停止複製フォークに高親和性で結合し、異常な巻き戻しを阻害し安定化すると同時に、複製フォークの再形成を促進する。RecG は PriA が直接認識できない構造の停止フォークに結合しこのプロセスを援助する。申請者はモデル停止複製フォークの構造を用いて、PriA と RecG の二種類のヘリカーゼのみでどのような複製フォークも安定化できることを証明した。真核細胞では複製フォークが同時に進行するので停止したフォークは崩壊しない限りやがて近傍から進行する複製フォークにより救済されると考えられる。したがって、真核細胞の停止複製フォークのプロセッシングでは、安定化して崩壊を防ぐことが最も重要である。

以上の事実を考えて、申請者は PriA と RecG ヘリカーゼを用いて、真核細胞において停止した複製フォークを安定化できる可能性を考案した。基本的に複製フォークがどのような形態で停止しても二個のヘリカーゼの組み合わせで安定化が可能である。真核細胞では複製フォークが安定化されれば、複製を完了できると考えられる(複製フォークを再開する)ので、PriA-RecG を発現し、停止複製フォークへの結合を介して、安定化することが可能ではないかと考え、本研究を計画した。

## 2. 研究の目的

複製フォークの進行は種々の内的、外的な原

因により頻繁に停止したり進行が阻害される。通常、停止複製フォークは細胞内の応答システムにより認識され、安定化され、最終的にはゲノム全体の複製が完了する。しかしこのシステムに異常が生じると複製フォークは不安定化し、DNA の切断にいたることもある。多くの染色体不安定性症候群ではこのシステムが不全となり、細胞増殖が低下したりゲノム異常が頻発する。染色体の不安定性の第一の原因は複製フォークの異常な巻き戻しによる崩壊である。申請者は大腸菌において、停止した複製フォークに結合し安定化する二個の因子 PriA と RecG の解析を行ってきた。本研究は、これらの因子を用いて、真核細胞の停止複製フォークの安定化を促進する新規技術を開発し、これを最終的に染色体不安定性症候群にみられるフォークの不安定化を防ぐ新規戦略として応用しようとするものである。

## 3. 研究の方法

本研究は、第一過程は、PriA によるクロマチン免疫沈降法の確立、第二過程は分裂酵母における実験、第三過程が動物細胞における実験となる。まず、PriA タンパク質に対する特異抗体を作製し、大腸菌において、実際に停止複製フォークへの結合を検出できるかどうかを検討する。続いて、複製チェックポイントの変異体が豊富に存在し、複製フォークの安定化の測定が容易な分裂酵母を材料に用いて、PriA および RecG を発現する。停止複製フォークの安定化に関与することが知られている *mrc1Δ*, *swi1Δ*, *swi3Δ*, *cds1Δ* 株などで PriA あるいは／および RecG を発現し HU 存在下で一本鎖 DNA が生じているかを ChIP-chip と RPA(一本鎖 DNA 結合タンパク)染色で検討する。さらに、動物細胞(がん細胞と正常細胞)で、Claspin や Tim1, Tipin を発現抑制した状態で PriA および RecG を発現し、一本鎖 DNA の量を免疫染色で比較する。さらに fork の安定化が観察されたら、PriA あるいは RecG 上の機能に必要な領域を最小化する。また、染色体不安定性症候群の患者由来の細胞でこれらのツールにより複製フォークの不安定性を解消できるかどうかを調べる。

## 4. 研究成果

細胞内で停止した DNA 複製フォークの安定化を促進する新規技術を開発するために、まず、停止フォークを特異的に検出する方法を確立する必要がある。大腸菌 PriA タンパク質は、DEXH 型のヘリカーゼであり、生化学的に停止フォーク構造を特異的に認識して結合する能力を有することに加え、遺伝学的に複製再開反応で重要な役割を果たすことが明らかにされている。このタンパク質は、細胞内でも停止したフォークに特異的に結合している可能性が示唆される数少ない因子の 1 つであり、この結合を検出することで、

生体内でのフォーク停止の認識およびその安定化の分子基盤確立に大きく寄与することが期待できる。特異的検出方法確立のために、染色体免疫沈降法 (chromatin immunoprecipitation, ChIP) とマイクロアレイ (chip) を組み合わせた ChIP-on-chip による解析を試みたところ、特に、チミン枯渇処理によりフォークを止める処理をした細胞では、複製起点付近に大きなピークのクラスターを見出した(図1)。このことは、PriA が細胞内で停止したフォーク構造に実際に結合し、チミン枯渇は複製起点付近に停

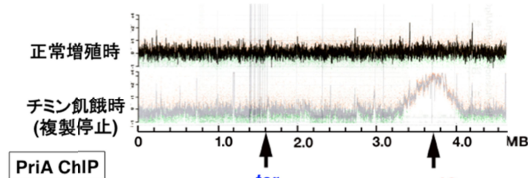


図1 大腸菌染色体上の PriA 結合部位の ChIP-chip 解析: DnaA-oriC 依存性複製系のみ作動する条件下 (野生型細胞) で PriA は、複製停止シグナル (チミン飢餓) に応答して oriC 近傍に結合する。

止フォークを蓄積させる可能性を示唆している。PriA の細胞内での集積を確認するため、免疫染色によって PriA のスポットを調べた結果、チミン枯渇処理をした細胞においては、核様体内に弱いながら特異的スポットを示唆する信号が検出され、枯渇から解放すると、これが拡散することを確認した。

一方、oriC に依存せずに複製する *rnhA* 株で同様の実験を行なったところ *terC* 終結領域に PriA は結合した (図2)。さらに

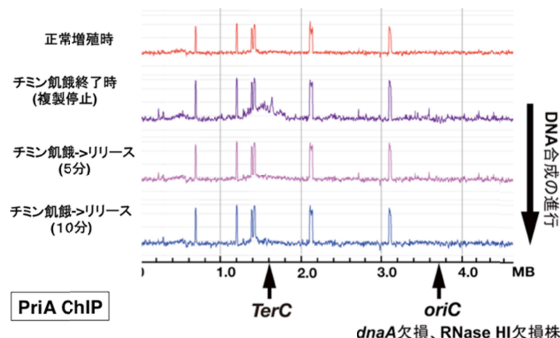


図2 大腸菌染色体上の PriA 結合部位の ChIP-chip 解析: PriA は DnaA-oriC 非依存性複製系のみ作動する条件下 (*dnaA<sup>ts</sup> rnhA*) で *terC* 領域に結合する。

RecA タンパク質も *terC* 領域に結合した (図3)。この事は *terC* 領域に *oriC* に依存しない二次的複製起点があることを示唆する。実際 *rnhA* 株において *terC* 領域を欠損すると生育能力が著しく低下した。以上の結果は、大腸菌 PriA タンパク質は、細胞内で停止フォークに結合しており、PriA タンパク質を特異的に追跡することにより、ゲノム上でフォークが停止しやすい領域 (染色体脆弱部位) を検出したり、PriA により停止フォークを安定化できるかどうかを視覚化するための有用なツールとして利用できる可能性を強く示唆する。

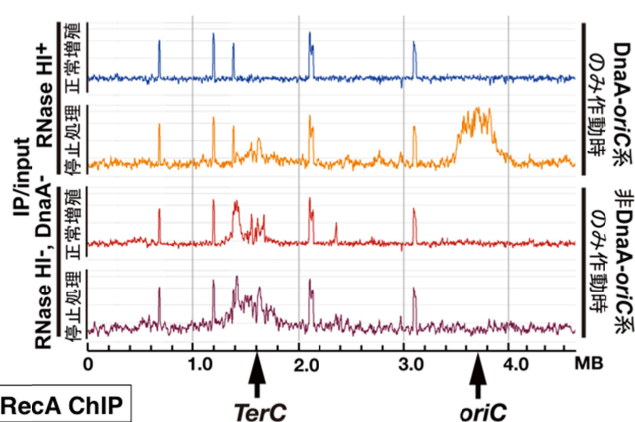


図3 大腸菌染色体上の RecA 結合部位の ChIP-chip 解析: RecA は通常はフォーク停止に応答して *oriC* 領域に結合する。*rnhA* 株では RecA は通常の状態でも *terC* 領域に結合している。PriA は RecA の結合の後に *terC* 領域に結合する。これらの結果から DnaA-oriC 非依存的染色体複製は *terC* 領域から開始することが強く示唆された。

続いて、PriA を真核細胞(分裂酵母と動物細胞)で発現し停止複製フォークの検出安定化に応用するための実験を行った。分裂酵母では PriA を大量に発現すると生育障害が観察される。そこで、生育障害の見えない程度に発現する株を作製し、複製フォークを HU で停止し、PriA により ChIP を行った結果、複製起点近傍への集積が観察された。現在種々の変異体において、PriA を発現し複製フォーク停止時に複製フォークの安定化が観察されるかどうかを RPA の結合による一本鎖 DNA 領域の検出により検討している。

動物細胞においても PriA を一過性に発現した。とくに toxicity はなかったもので、現在 PriA を適切なレベルで発現する安定発現株を作製しており、これを用いて、複製ストレス時の PriA のクロマチン結合および、複製フォークの安定性について検討している。

また、RecG についても同様に分裂酵母および動物細胞で発現をして複製フォークの安定化を検討している。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 30 件)

1. Bellelli, R., Castellone, M.D., Guida, T., Limongello, R., Dathan, N.A., Merolla, F., Cirafici, A.M., Affuso, A., Masai, H., Costanzo, V., Grieco, D., Fusco, A., Santoro, M., and Carlomagno, F. (2014) "NCOA4 Transcriptional Coactivator Inhibits Activation of DNA Replication Origins." *Mol. Cell Jun* 4. pii: S1097-2765(14)00365-7. doi:10.1016/j.molcel.2014.04.031. 査読有
2. Yoshizawa-Sugata, N. and Masai, H. (2014) "Cell cycle synchronization and flow cytometry analysis of mammalian cell." *Methods in Molecular Biology*, 1170:279-93. (Review)doi:10.1007/978-1-4939-0888-2\_1

3. 査読有
3. Hisao Masai (2014) News and Views “ATM in prevention of genomic instability.” *Cell Cycle*, 13, 882-883. (Commentary) doi:0.4161/cc.28216 査読有
4. Claire Renard-Guillet, Yutaka Kanoh, Katsuhiko Shirahige, and Hisao Masai (2014) “Recent advances in temporal and spatial regulation of eukaryotic DNA replication: From regulated initiation to genome-scale timing program.” *Seminars in Cell & Developmental Biology*, pii: S1084-9521(14) 00085-8. (Review) doi: 10.1016/j.semcdb.2014.04.014. 査読有
5. Yamada, M., Masai, H., and Bartek, J. (2014) “Regulation and roles of Cdc7 kinase under replication stress.” *Cell Cycle* May 19;13(12). [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24841992. 査読有
6. Masai, H. (2013) “A personal reflection on the Replicon Theory: from R1 plasmid to replication timing regulation in human cells.” *J. Mol. Biol.* 425, 4663-4672. (Review) doi:10.1016/j.jmb.2013.03.039 査読有
7. Matsumoto, S. and Masai, H. (2013) “Regulation of chromosome dynamics by Hsk1 kinase.” *Biochemical Society Transactions* 41, 1712-1719. (Review) doi:10.1042/BST2013021 査読有
8. Yamada, M., Watanabe, K., Mistrik, M., Mailand, N., Lee, M-H., Masai, H., Lukas, J. and Bartek, B. (2013) “ATR-Chk1-APC/CCdh1-dependent stabilization of Cdc7-ASK(Dbf4) kinase complex is required for DNA damage bypass under replication stress.” *Genes and Development* 27:2459-2472. 査読有
9. Aria, V., De Felice, M., Di Perna, R., Uno, S., Masai, H., Syvaola, J.E., van Loon, B., Hubscher, U., Pisani, F.M. (2013) “The Human Tim/Tipin Complex Directly Interacts with DNA Polymerase {epsilon} and Stimulates its Synthetic Activity.” *J. Biol. Chem.* 288, 12742-12752. doi:10.1074/jbc.M112.398073 査読有
10. Jeffery, D.C., Wyse, B.A., Rehman, M.A., Brown, G.W., You, Z., Oshidari, R., Masai, H., Yankulov, K.Y. (2013) “Analysis of epigenetic stability and conversions in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a novel role of CAF-I in position-effect variegation.” *Nucleic Acids Res.* 41, 8475-8488. doi:10.1093/nar/gkt623 査読有
11. Tanikawa, M., Wada-Hiraike, O., Yoshizawa-Sugata, N., Shirane A, Hirano M, Hiraike H, Miyamoto, Y., Sone, K., Ikeda, Y., Kashiwara, T., Oda K, Kawana K, Katakura Y, Yano T, Masai, H., Roy AL, Osuga, Y., Fujii, T. (2013) “Role of multifunctional transcription factor TFII-I and putative tumour suppressor DBC1 in cell cycle and DNA double strand damage repair.” *Br. J. Cancer.* 109, 3042-3048. doi:10.1038/bjc.2013.532 査読有
12. Hayano, M., Kanoh, Y., Matsumoto, S., Shrahige, K. and Masai, H. (2012) “Rif1 is a global regulator of timing of replication origin firing in fission yeast.” *Genes and Development*, 26,137-150. doi: 10.1101/gad.178491.111 査読有
13. Yamazaki, S., Ishii, A., Kanoh, Y., Oda, M., Nishito, Y. and Masai, H. (2012) “Rif1 protein is a key regulator of the genome-wide DNA replication timing in human cells.” *EMBO J.* 31, 3167-3177. doi: 10.1038/emboj.2012.180. 査読有
14. Barkley, L.R., Palle, K., Durando, M., Day, T.A., Gurkar, A., Kakusho, N., Li, J., Masai, H. and Vaziri, C. (2012) “c-Jun N-terminal Kinase (JNK)-Mediated Rad18 Phosphorylation Facilitates Polη Recruitment to Stalled Replication Forks.” *Mol. Biol. Cell.* 23, 1943-1954. doi: 10.1091/mbc.E11-10-0829. 査読有
15. Moriyama, K., Yoshizawa-Sugata, N., Obuse, C., Tsurimoto, T. and Masai, H. (2012) “EBNA1-dependent recruitment of Orc on OriP of Epstein-Barr virus with purified proteins: Stimulation by Cdc6 through Its direct interaction with EBNA1.” *J. Biol. Chem.* 287, 23977-23994. doi:10.1074/jbc.M112.368456 査読有
16. Ito, S., Ishii, A., Kakusho, N., Taniyama, C., Yamazaki, S., Sakaue-Sawano, A., Miyawaki, A., and Masai, H. (2012) “Mechanism of cancer cell death induced by depletion of an essential replication regulator.” *PLoS One*, 7, e36372. doi:10.1371/journal 査読有
17. Uno, S., You, Z., and Masai, H. (2012) “Purification of replication factors using insect and mammalian cell expression systems.” *Methods*, 57, 214-221. doi:10.1016/j.ymeth.2012.06.016 査読有
18. Oda, M., Kanoh, Y., Watanabe, Y., and Masai, H. (2012) “Regulation of DNA replication timing on human chromosome by a cell-type specific DNA binding protein SATB1.” *PLoS One* 7, e42375. doi: 10.1371/journal 査読有
19. Miyoshi, T., Kugou, K., Yamada, S., Ito, M., Furuichi, M., Oda, A., Hirota, K. and

- Masai, H. and Ohta, K. (2012) "A central coupler for recombination initiation linking chromosome architecture to S-phase checkpoint." *Mol. Cell* 47, 722-733.  
doi:10.1016/j.molcel.2012.06.023 査読有
20. Suzuki, T., Tsuzuku, J., Hayashi, A., Shiomi, Y., Iwanari, H., Mochizuki, Y., Hamakubo, T., Kodama, T., Nishitani, H., Masai, H. and Yamamoto, T. (2012) "Inhibition of DNA damage-induced apoptosis through Cdc7-mediated stabilization of Tob." *J. Biol. Chem.* 287, 40256-40265.  
doi:10.1074/jbc.M112.353805  
doi:10.1101/gad.224568.113 査読有
21. You, Z., De Falco, S., Pisani, F.M. and Masai, H. (2012) "MCM helicase interacts with primase and stimulates its priming activity." *PLoS One* 8, e72408.  
doi:10.1371/journal 査読有
22. Toh G-T. and Masai, H. (2012) "Cdc7L1" UCSD-Nature Molecule Pages, Published online: 31 August 2012 (Review) | doi:10.6072/HO.MP.A003137.01 査読有
23. Masai, H. (2012) "Cdc7" *The Encyclopedia of Signaling Molecules Springer Reference and Database Publishing* 査読有
24. Masai, H. (2012) "Dbf4" *The Encyclopedia of Signaling Molecules Springer Reference and Database Publishing* 査読有
25. Masai, H. (2011) "RecQL4: a helicase linking formation and maintenance of a replication fork." *J. Biochem.* 149, 629-631 (commentary)  
doi:10.1093/jb/mvr031. 査読有
26. Yamazaki, S., Hayano, M. and Masai, H. (2013) "Replication timing regulation of eukaryotic replicons: Rif1 as a global regulator of replication timing." *Trends in Genetics.* 29, 449-460.  
doi:10.1016/j.tig.2013.05.001 査読有
27. Kitamura, R., Fukatsu, R., Kakusho, N., Cho, Y-S., Taniyama, C., Yamazaki, S., Toh, G-T., Yanagi, K., Arai, N., Chang, H-J. and Masai, H. (2011) "Molecular mechanism of activation of human Cdc7 kinase: Bipartite interaction with Dbf4/ASK stimulates ATP binding and substrate recognition." *J. Biol. Chem.* 286, 23031-23043.  
10.1074/jbc.M111.243311 査読有
28. Hayano, M., Kanoh, Y., Matsumoto, S., Kakusho, N. and Masai, H. (2011) "Pre-firing binding of Mrc1 defines the early-firing origins which are selectively hyper-activated upon loss of fork stabilizing factors in fission yeast." *Mol. Cell. Biol.* 31, 2380-2389.  
doi: 10.1128/MCB.01239-10. 査読有
29. Uno, S and Masai, H. (2011) "Efficient expression and purification of human replication fork-stabilizing factor, Claspin, from mammalian cells: DNA binding activity and novel protein interactions." *Genes to Cells*, 16, 842-856.  
doi:10.1111/j.1365-2443 査読有
30. Matsumoto, S., Hayano, M., Kanoh, Y. and Masai, H. (2011) "Multiple pathways can bypass the essential role of fission yeast Hsk1 kinase in DNA replication initiation." *J. Cell Biol.* 195, 387-401.  
doi:10.1083/jcb.201107025 査読有
- [学会発表] (計 19 件)
1. 正井 久雄、田中 卓、加納 豊、山崎 聡志、松本 清治、吉沢 直子、松嶋 夢叶 「染色体 DNA 複製プログラムの制御機構と起源・進化」 The 2nd Symposium of Cell Cycle Control and Cell Fate (第2回 細胞周期制御と細胞運命シンポジウム) 2014 年 2 月 13-14 日 浜松 (特別招待講演)
  2. Hisao Masai "Cell cycle and chromatin regulators in stem cell regulation." The Gene and Immunotherapy conference, March 21-22, 2013, Ho chi Min City, Vietnam (Invited lecture)
  3. Hisao Masai "A personal reflection on the Replicon Theory: from R1 plasmid to replication timing regulation in human cells" "Symposium: Half a Century With Replicon Theory for Genome Stability and Instability" (The 50th anniversary of the replicon theory)", March 25-28, 2013, Pasteur Institute, Paris, France (Invited speaker)
  4. Hisao Masai "Control of origin firing timing in fission yeast cells." EMBO Conference "Pombe 2013 7th International Fission Yeast Meeting", June 24-29, 2013, London UK (Chairperson, invited speaker)
  5. Hisao Masai "Introduction" Symposium, 86<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society, Sept. 14-16, 2013, Fukuoka, Japan (Invited lecture)
  6. Hisao Masai, Yutaka Kanoh, Satoshi Yamazaki, Motoshi Hayano, Naoko Yoshizawa, Kenji Moriyama, Yumeka Matsushima, Naoko Kakusho, Rino Fukatsu "Chromatin architecture that regulates replication timing of eukaryotic chromosomes." 第 86 回日本生化学会大会事務局 インターナショナルセッション『Assembly and architecture of protein complexes regulating inheritance and stable maintenance of genome』 2013 年 9 月 14-16 日 福岡 (招待講演)

7. 正井 久雄「イントロダクション」 第 36 回 (2013 年) 日本分子生物学会年会, ワークショップ『レプリコン仮説 50 周年: 染色体複製装置の形成とその活性の時空間制御』オーガナイザー 2013 年 12 月 3-6 日 福岡 (招待講演)
8. 正井 久雄、山崎 聡志、Lai Mongsing、Foiani Marco、吉沢 直子、加納 豊、松本 清治、森山賢治、覺正 直子、深津 理乃、松嶋 夢叶、河野 暢明、Renard-Guillet Claire “Rif1: a potential global regulator of DNA replication, DNA repair, and recombination.” 第 36 回 (2013 年) 日本分子生物学会年会, ワークショップ『DNA 二重鎖切断の end-resection と修復機構の選択・制御』 2013 年 12 月 3-6 日 福岡 (招待講演)
9. Hisao Masai, Hiroko Fujii, Naoko Kakusho, Sayuri Ito, Satoshi Yamazaki, and Naoko Yoshizawa “Cell cycle regulation of mouse embryonic stem cells: E2F- and Emil-mediated positive feedback regulation.” 4th Southeast Stem Cell Consortium Workshop at Florida State University, September 28-29, 2012, Tallahassee, Florida (Invited lecture)
10. Hisao Masai “Regulation of replication fork in maintenance of genomic integrity.” (2012 Arthur Kornberg Memorial Award Lecture) 15th A-IMBN Annual Conference, October 23, 2012, Shanghai (Invited lecture)
11. Hisao Masai, Satoshi Yamazaki, Yutaka Kanoh, Motoshi Hayano, Seiji Matsumoto, Naoko Yoshizawa, Rino Fukatsu, Naoko Kakusho, and Michie Shimmoto “Regulation of replication program in fission yeast and human cells.” 8<sup>th</sup> 3R meeting, November 25-28, 2012, Awajishima (Invited speaker)
12. Hisao Masai “Regulation of replication program in fission yeast and human cells” 1st Igakuken Symposium on “Regulation of Chromosome Cycle” November 29, 2012, Igakuken, Tokyo (Invited lecture)
13. 正井 久雄 「解体再構成的アプローチから合成生物学・生命現象シミュレーションへ: DNA 複製をモデルとして」第 85 回日本生化学会大会 シンポジウム 2012 年 12 月 14-16 日 福岡 (招待講演)
14. Hisao Masai “Regulation of replication program in fission yeast and human cell.” Department of Biological Science, Florida State University, September 26, 2012, Tallahassee, Florida (Invited lecture)
15. Hisao Masai, Seiji Matsumoto, Motoshi Hayano, Yutaka Kanoh, Michie Shimmoto, Naoko Kakusho, and Satomi Kudo “Regulation of replication program in fission yeast.” The 6th International Fission Yeast Meeting, 2011.6.25-29,

Boston, USA (招待講演)

16. Motoshi Hayano, Yutaka Kanoh, Seiji Matsumoto and Hisao Masai “Rif1 is a global regulator of site selection and timing of replication origin firing.” The 6th International Fission Yeast Meeting, 2011.6.25-29, Boston, USA (口頭発表)
17. Hisao Masai, Satoshi Yamazaki, Yutaka Kanoh, Motoshi Hayano, Seiji Matsumoto, Naoko Kakusho “Regulation of replication program in fission yeast and human cells.” Cold Spring Harbor Laboratory Meeting Eukaryotic DNA Replication & Genome Maintenance, 2011.9.6-10, New York, USA (口頭発表)
18. Hisao Masai “Regulation of the replication program in fission yeast and human cells.” Seminar, 2011.11.25, Hong Kong University of Science and Technology (招待講演)
19. 正井久雄「DNA 複製制御因子を標的とした制がん戦略: Cdc7 キナーゼ阻害によるがん細胞死誘導」第 9 回 日本臨床腫瘍学会/日本癌学会/分子標的治療学会 合同シンポジウム “基礎から学ぶ次世代の分子標的治療薬と基盤技術” 2011.7.21 (東京) (招待講演)

〔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・基盤技術研究センター長

研究者番号: 40229349

### (2) 研究分担者

田中 卓 (TANAKA, Taku )

同上・主席研究員

研究者番号: 80425686

### (3) 連携研究者

松本 清治 (MATUMOTO, Seiji )

同上・研究員

研究者番号: 40190532

### (4) 連携研究者

覺正 直子 (KAKUSHO, Naoko )

同上・研究員

研究者番号: 30599593

### (5) 連携研究者

加納 豊 (KANOH, Yutaka )

同上・研究員

研究者番号: 90450593