



放生研ニュース

No. 141

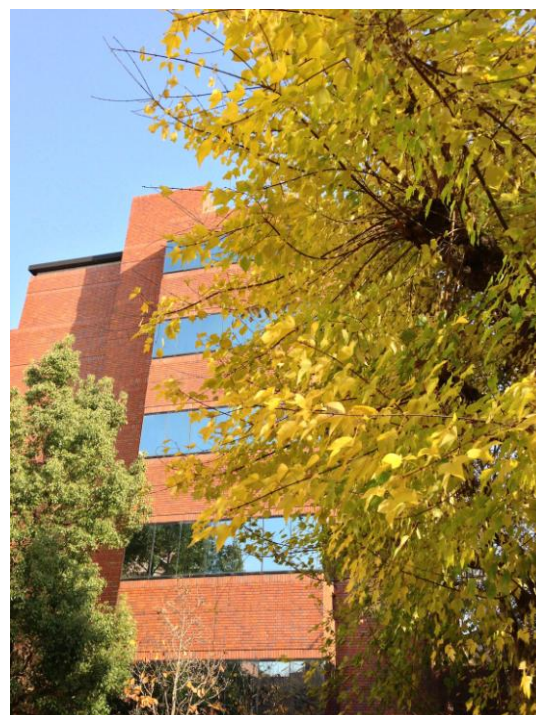
December 25, 2012

Newsletter

Radiation Biology Center Kyoto University

目次

大会印象記（放生研・放医研国際シンポジウム） ..	2
ミニレビュー	10
(DNA 二重鎖切断の修復遺伝子クローニングの歴史)	
放生研の研究活動紹介	12
(FANCD2 のヒストンシャペロン活性)	
平成 25 年度共同利用研究・重点領域研究の募集	14
平成 24 年度下半期共同利用研究の追加採択	17
平成 24 年度 第 1 回協議員・運営委員会議事録	17
放生研各種委員会委員候補者の選挙について	18
放生研日誌	20



秋の放生研



放生研・放医研国際シンポジウム印象記（2 ページ）



平成 25 年度共同利用研究・重点領域研究の募集（14 ページ）

【大会印象記】

RBC-NIRS International Symposium (放生研・放医研国際シンポジウム)

「Radiation-associated Repair Proteins and DNA Repair Network」

平成 24 年 11 月 29 日～30 日にコープ・イン・京都において第 28 回放生研・放医研国際シンポジウム「放射線修復蛋白と DNA 修復ネットワーク (Radiation-associated Repair Proteins and DNA Repair Network)」が、小松賢志教授をオーガナイザーとして開催された。本シンポジウムでは放射線が誘導する DNA 二重鎖切断をはじめとする様々な DNA 損傷応答、ストレス応答について最新の知見を得るとともに、このような放射線による複合的ストレス応答・DNA 修復ネットワークをテーマとして、海外からの招待講演者 12 名を含む約 120 名の参加があり、Keynote Lecture と 6 つのセッションで活発な討論がなされた。

〈Keynote Lecture〉

今回のオーガナイザーである小松賢志教授による Opening remark に続き、Tom K Hei 博士 (Columbia University Medical Center, USA) は、「Radiation-Induced Non-Targeted Response: Mechanism and Clinical Relevance」で講演された。これまで、放射線の主要な標的は、照射を受けた細胞自身の DNA であると長く信じられてきた。しかし、博士らの研究により、細胞質に放射線を照射した場合にもゲノム不安定性が生じることや、照射された細胞以外にも放射線によると考えられる影響が見られること (バイスタンダー効果) が明らかとなってきた。特に、放射線に感受性となる遺伝子バックグラウンドをもつマウス個体を用いた解析で、X 線を下腹部に照射したにもかかわらず、非照射部位であるはずの脳に髄芽腫が形成されとの報告は、前述のバイスタンダー効果を *in vivo* で実証したケースとして注目される。さらに、博士らは照射を受けた細胞の中で何が起こり、どのように他の細胞に影響が伝播するのかを解析する過程で、NF- κ B による COX-2 遺伝子の発現誘導と炎症応答、およびミトコンドリアの分裂の亢進が重要であることを見いだした。

博士らの研究成果は、放射線医療のリスク評価はもちろん、治療効果を最大化するための方法論の確

立に必要不可欠なものになると感じた。



Dr. Tom K Hei

〈Session 1: Oxidative stress and cellular response〉

Cheryl Lyn Walker 博士 (Institute of Biosciences and Technology, USA) は「ATM Signaling to TSC2 in the Cytoplasm in Response to ROS: The Secret Life of a DNA Repair Protein」で講演された。ATM は DNA 修復機構や細胞周期チェックポイントにおいて重要な役割を担っていることはよく知られている。このたび、博士達は ATM の核の外 (細胞質) での役割を明らかにした。ROS によって ATM は活性化されるが、それに反して、mTOR の活性が抑圧されることがわかった。mTOR とは、栄養源やストレスなどによって活性制御される kinase である。ATM-/- cell では、ROS による mTOR の応答が見られないことから、ROS による ATM 活性化の下流には mTOR の存在が示唆され、ROS→ATM→LKB1→AMPK→TSC2 という mTOR 経路へとつながることが明らかとなった。また、局在を観察したところ、ATM は Peroxisome にも局在し、mTOR の上流に位置する因子 TSC2 もまた同様な局在を示すことがわかった。これらのことから、ATM の細胞質での活性化は、空間的に Peroxisome で行われていることが示唆された。



Dr. Cheryl Lyn Walker

Qiu-Mei Zhang-Akiyama 博士 (Kyoto University, Japan) は「Oxidation resistance1 (OXR1) is essential for protection against oxidative stress and participates in the regulation of aging in *C. elegans*」で講演された。ROS は DNA にダメージを与え、結果、突然変異や発ガン、老化を引き起こす。2000 年、Volkert らによって大腸菌で新規の遺伝子 oxidation resistance 1 (*OXR1*) が同定された。*OXR1* はヒトから酵母まで保存されている。博士達は *C. elegans* の *OXR1* (*CeOXR1*) を同定し、解析を試みた。その結果、*CeOXR1* には、DNA glycosylase 活性が無いことがわかった。また、光化学系の電子受容体として働き、スーパーオキシドを産生することで知られているメチルビオロゲン (MV) 処理で発現誘導される大腸菌遺伝子 *soxS* と *sodA* の発現を *CeOXR1* は抑圧することがわかった。さらに、*CeOXR1* を欠損した *C. elegans* では、野生型 N2 worm に比べて著しく寿命が短くなることがわかった。これらのことから *CeOXR1* は、酸化ストレスを防ぐことで老化の制御に関わっていることが示唆された。

Takashi Kondo 博士 (University of Toyama, Japan) は「Roles of intracellular oxidative stress in DNA Damage and apoptosis induced by different physical stressors; ionizing radiation, hyperthermia and ultrasound」で講演された。放射線、温熱、超音波は、これまで長い間、診断や癌治療に活用されてきた。放射線による物理的なストレスによって DNA 二本鎖切断が生じ、アポトーシスが誘導されることは、よく知られているが、超音波によって引き起こされるキャビテーションストレスによって DNA 二本鎖切断が生じることを近藤先生は、明らかにされた (キャビテーションとは、超音波による微小気泡の形成、振動、それによる崩壊の一連の過程を示す)。温熱と超音波のような物理的なストレスが生体に与える影響を遺伝子発現レベルまで解析されて大変興味深かった。

〈Session 2: Oxidative stress and animal model〉

Toshio Suda 博士 (Keio University School of Medicine, Japan) は「Glycolytic metabolism of hematopoietic stem cells under oxidative stress」で講演

された。前半は造血幹細胞 (Hematopoietic stem cell; HSC) を維持する代謝制御システムと関連生命機能について紹介された。この分野で重要な問題点は造血幹細胞 HSC の移植生着効率を高める事であり、その一つが酸化ストレスとの関連である。HSC は酸化ストレスに脆弱であることが報告されている。骨髄内は酸化ストレスが低い恒常的な低酸素状態環境であり、HSC は実際、低酸素状態に応答するために重要な転写因子 HIF-1 α を発現している。HSC の細胞数は HIF-1 α の量に依存しており、HIF-1 α 欠損マウスの HSC は、抗がん剤 5FU (核酸合成を阻害する) に感受性を示し、HSCs の移植生着能の低下や加齢による幹細胞喪失が見られた。さらに欠損 HSC ではメタボローム解析から HSC は解糖系を活性化する一方、ピルビン酸脱水素酵素の活性が阻害されていて TCA サイクルは抑制されていた。これらの代謝特性は HIF-1 α 依存的であり、HSC を操作するための重要な標的であると考えられた。講演後半ではテロメア結合タンパク質 POT1 の高発現過剰発現が HSC の移植生着骨髄移植の効率を高める事をマウスの系で示した。POT1 は主にテロメアで機能する。染色体末端であるテロメアは単鎖 DNA を含む構造体であり、そのままでは細胞に DNA 損傷として間違えて認識され、DNA 損傷応答システムが発動されてしまうが、POT1 がテロメア末端の単鎖 DNA 部分に結合して保護することでテロメア末端での DNA 損傷応答活性化が抑制される。POT1 高発現がテロメア以外の DNA 損傷やその応答も抑制する事も予想され、こうした効果が移植生着能の向上に寄与していると考えられる。



Dr. Toshio Suda

Martin Lavin 博士 (Queensland Institute of Medical Research, Australia) は「Senataxin functions with DNA damage response proteins to maintain genome integrity」

で、AOA (Ataxia ocular motor apraxia) という進行性小脳失調症の原因遺伝子 Senataxin の機能の解析を講演され、ノックアウトマウスの解析の過程で Senataxin が減数分裂の染色体不活化に重要な機能をもつことが明らかとなった非常に興味深い内容であった。ほ乳類の雄の減数分裂は精細胞で精子形成を行うため活発に行われている。雌の卵形成時に見られる減数分裂との大きな違いは MSCI (Meiotic Sex Chromosome Inactivation) と呼ばれる不対合性染色体 (雄: XY、雌: XX) の不活化である。性染色体の遺伝子発現を抑える事が減数分裂の正常な遂行になぜか必須であり、H2AX, MDC1 などの DNA 損傷応答因子が関与する事がこれまで報告されているがその分子機構は不明であった。Lavin らは、Senataxin (実は RNA/DNA helicase らしい) が染色体上での遺伝子発現に伴いあらわれる RNA-DNA ハイブリッドを取除くのに機能することを見いだした。Senataxin は BRCA1 などの DNA 損傷応答因子と協調して性染色体へ局在し、染色体の遺伝子発現の不活化の最初のステップを担うこと、さらに常染色体でも RNA-DNA のハイブリッドを除去する事で転写中間体が減数分裂時の相同組換えを妨げないようにもしているとのことであった。酵母では有糸分裂期の DNA 複製期に転写中間体を除く役割を果たしているとの報告もあり、Senataxin が様々な種類の細胞で同様の役割を果たしている事が示唆され、神経細胞の退縮も同様に説明可能なのかもしれない。



Dr. Martin Lavin

Peter Mckinnon 博士 (St Jude Children's Research Hospital, USA) は「ATM, DNA Damage Signaling and Neurogenesis」で講演された。従来 ATM は DNA 二本鎖切断のセンサーとして DNA 二本鎖切断修復に機能するものと考えられていたが、DNA 一本鎖切断の

修復にも機能し、その機能にはキナーゼ活性は不要であるという、新しい知見の紹介であった。ATM 関連遺伝子の欠損に伴う遺伝疾患では脳神経変性が見られる。他に脳神経変性を引き起こすものに、SCAN1 と呼ばれる遺伝子の欠損に伴う疾患もある。SCAN1 の遺伝子産物 (Tdp1) は染色体 DNA 上に残されたトポイソメラーゼを取りのぞく活性をもつ。1 型トポイソメラーゼの役割はゲノム上で起こる転写の際に染色体 DNA を巻き戻す事であり、その際に DNA を切断し切断端と共有結合を介した中間体を形成する。しかし、これに続く共有結合の解除がおこらず中間体のまま DNA 上に残る事があり、その場合は残ったトポイソメラーゼと結合した DNA 端は細胞にとっては非常に危険である。SCAN1 欠損患者では、おそらくはその蓄積が神経細胞を死に至らしめているのであろう。発表では SCAN1 欠損疾患との共通性から ATM も同じ過程に機能すると予想し、解析を行った。SCAN1 の遺伝子産物は DNA とトポイソメラーゼとの間の共有結合の解除に機能するのに対し、ATM はトポイソメラーゼの SUMO 化を促す事で自発的な解離サイクルを促進するとの結果を示した。これらの結果は SCAN1 (Tdp1) と ATM のダブル欠損マウスがより重度の神経疾患の表現型を示す事からも検証でき、これらの機能をさらに解析することは A-T における脳神経変性の原因を解明する上で重要であると考えられた。



Dr. Peter Mckinnon

〈Session 3: Mechanism of DNA damage responses I〉

Andrei Seluanov 博士 (University of Rochester, USA) は「SIRT6 rescues age-related decline of DNA DSB repair」で講演された。細胞組織は加齢と共にゲノム不安定性を示すことが知られるが、このゲノム不安定性の増加は DNA 二重鎖切断の修復の異常に起因

すると考えられている。講演者らは加齢と共に DSB 修復機構である HR、NHEJ が低下し、それに脱アセチル化酵素である SIRT6 が関わることを発見した。SIRT6 は酸化ストレスで DSB 部位に集積し、HR と NHEJ の両方に関わる。また SIRT6 はポリ (ADP-リボース) 合成酵素 PARP と結合し、SIRT6 が PARP をモノリボシル化することによって、PARP の活性化を促し、酸化ストレス下における DSB 修復を促進していることが示唆された。さらに PARP の活性制御に関わる因子である JNK のリン酸化に SIRT6 が関わることを示唆されており、加齢に伴う転写発現の変化に対する SIRT6 と PARP の役割が明らかになりつつあり、今後のさらなる解析が期待された。

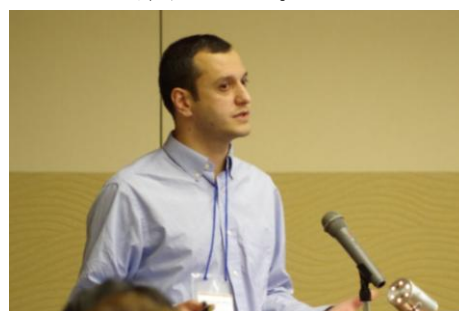


Dr. Andrei Seluanov

Junya Kobayashi 博士 (RBC, Kyoto University, Japan) は「Role of MRE11 complex in regulation of ATM activation」で講演された。Ataxia-Telangiectasia (A-T) 及びその関連疾患 NBS, AT-LD の放射線高感受性、放射線抵抗性 DNA 合成、染色体不安定性という細胞学的特徴の類似性から予想されたように、その原因遺伝子 ATM, NBS1, MRE11 は放射線で誘導される DSB 損傷時に複合体形成をして、ATM キナーゼの活性を制御する。しかし、臨床学的特徴では、A-T, AT-LD は進行性小脳失調、NBS は小頭症と異なる神経変性症状を示し、ATM, MRE11 と NBS1 では異なる機能の存在も示唆される。このような分離された機能を明らかにするために、新規の日本人 A-T 様患者に着目した。この患者では MRE11 遺伝子で未報告部位に missense mutation が見つかり、その変異が NBS1 との結合、DSB による ATM 経路の活性化に影響することを明らかにした。近年、ATM は ROS 応答でも活性化されることが報告されているが、AT-LD 患者細胞でも A-T 患者細胞同様に ROS 誘導 ATM 経路の活

性化に異常が見られ、ATM 同様に MRE11 もミトコンドリアに分布していた。しかし、NBS 細胞では ROS 応答が正常であったことから、MRE11 は NBS1 とは独立して、ROS による ATM 経路の活性化に機能する事が示唆され、MRE11 の新たな機能に関心がもたれた。

Nodar Makharashvili 博士 (University of Texas, USA) は「The role of CtIP nuclease Activity in DNA Damage Repair」で講演された。CtIP は MRN 複合体と結合し、DSB 修復に関わる因子である。CtIP は酵母オルソログ Sae2 が nuclease 活性を有していることから、CtIP にも nuclease 活性を有し、DSB 修復へ関与していると考えられているが、その機能の詳細は不明であった。講演者らはヒトリコンビナント CtIP を精製し、CtIP が nuclease 活性を有することを示した。CtIP 変異体発現細胞はカンプトテシンに感受性を示す。また CtIP において DNA 損傷依存的リン酸化部位を同定し、このリン酸化が nuclease 活性を制御していることもみいだした。CtIP の nuclease 活性が今後どのようなメカニズムで DSB 修復に関与し、そのメカニズムが DSB 修復機構の新たな側面を明らかにできることが期待される。



Dr. Nodar Makharashvili

〈Session 4: ICL repair and related factors〉

このセッションは今回のシンポジウムのハイライトの1つであった。まず、Ketan J. Patel 博士 (Medical Research Council, UK) は「Toxic metabolism and DNA repair and haematopoiesis」という題で講演した。これまでファンニ貧血 (FA: 後述) が DNA 鎖間架橋 (ICL) 修復に関わることは広く知られていたが、内因性のどのような DNA 損傷を修復するのかよくわかっていなかった。今回の Patel 博士と続いての高田博士の発表は、代謝により生じる内因性のアルデヒドが DNA 損傷を引きおこし、FA 経路がアルデヒドによ

る損傷修復に重要であることを示した。

FA はゲノム不安定症候群に分類される稀なヒト遺伝疾患であり、FA 患者は骨格形成異常、進行性骨髄不全、高発がん性などを特徴とする。Patel 博士は、まず、FA 経路欠損 DT40 細胞がアセトアルデヒドに高感受性であることを示し、体内でアセトアルデヒドの代謝を担う *aldh2* 遺伝子に着目した。*Aldh2* 単独欠損マウス (*aldh2*^{-/-}) はメンデルの法則通りに生まれ著明な表現型を示さないが、*aldh2*^{-/-} *fancd2*^{-/-} の二重ホモ欠損マウスは胎生致死となる。ただし母親が *aldh2*^{+/-} ヘテロの場合は (アセトアルデヒドの胎盤を通じたやり取りで)、二重ホモ欠損胎児の胎生致死が抑制される。さらに妊娠した母体にエタノールを投与した場合には二重変異をもった胎児の出生率は生理食塩水を与えた対照の母体と比較し大幅に減少し、多くの胎児に奇形がみられた。結論として、*aldh2*^{-/-} *fancd2*^{-/-} 二重変異胎児は内因性のアセトアルデヒド暴露に非常に感受性である。*aldh2*^{-/-} *fancd2*^{-/-} 二重ホモ欠損マウスは 10 日間のアルコールの継続的な経口摂取により、骨髄不全が強く誘発され、骨髄細胞では DNA 損傷の指標であるヒストン γ-H2AX の亢進がみられ、T 細胞性の急性白血病が出現した。さらに急性白血病を発症しなかった *aldh2*^{-/-} *fancd2*^{-/-} 二重ホモ欠損マウスは再生不良性貧血を発症することを見いだした。この時、造血幹細胞および始原細胞 (hematopoietic stem and progenitor cell: HSPC) には DNA ダメージの集積が観察される。また、*aldh2*^{-/-} *fancd2*^{-/-} 二重ホモ欠損マウスは野生型に比べ約 600 倍の造血幹細胞の減少がみられた。以上のことは、ヒト FA 患者でみられる骨髄不全は、おそらく造血幹細胞プールに限定された内在性アルデヒドによる遺伝毒性 (genotoxicity) が原因と考えられる。さらに、生体内でホルムアルデヒドを代謝する *aldh5* と FA 経路の二重欠損の DT40 細胞は致死性を示すなど、ホルムアルデヒドの重要性も示唆された。

以上の報告は、FA 患者の示す骨髄不全や高発がん性の病態発現メカニズムの理解や内在性アルデヒドによる FA 経路の標的であることを示すにとどまらず、アルコールによる発がん、奇形などの様々な分野と関連する大きな仕事であり、インパクトの強い

発表であった。



Dr. Ketan J. Patel

Minoru Takata 博士 (RBC, Kyoto University, Japan) は「Genetic interplay between the Fanconi anemia pathway and aldehyde metabolism in human」と題して講演を行った。Patel 博士の発見した FA 経路と *aldh2* の関係をうけて、ヒト患者での検討を行った。日本人を含む東アジア人では ALDH2 タンパク質の Glu504 が Lys に置換する変異型アリルをもつ割合が高いことが知られている。ALDH2 の GA 型はドミナントネガティブ効果を示し、正常型 (GG 型) に比べ、ALDH2 活性が約 1/10 に低下する。また、AA 型は酵素活性を示さないヌル変異体である。日本人では GG 型、GA 型、AA 型が 50%, 40%, 10% 存在する。そこで、東海大学病院の矢部みはる博士らが収集した 55 例のヒト FA 患者サンプルについて解析を行った。55 例のうち、28 例が *fanca*, 4 例が *fancg* の変異であり、他の 23 例は *fanca,c,g* に変異がないか、あるいは未解析である。全ての患者について *aldh2* の genotype 解析を行った。2 例が AA 型、10 例が GA 型、20 例が GG 型であった。ALDH2 機能活性と骨髄不全の進行度とは高い相関がみられた。また、AA 型の 2 例ではどちらも骨髄異形成 (myelodysplasia) で非常に幼少期に死亡がみられた。さらに京大 CiRA の中畑研との共同研究により、*fanca* ホモ欠損 *aldh2* ヘテロ欠損患者細胞から iPS 様細胞を樹立し、FANCA を戻した iPS 様細胞を用いて解析を行った。

これらの研究から、ヒトでも FA 経路とアルデヒド代謝との関連が示され、FA 経路と骨髄不全との強い相関が示された。なお、FA 患者細胞が ICL 修復欠損であることを世界に先駆けて報告されたのは、京大放生研におられた佐々木正夫・京大名誉教授である。佐々木名誉教授が、Patel 博士や高田博士の講演後にコメントされ、終了後、記念撮影をされていたのが非常に印象に残った。

Hiroshi Ide 博士 (Hiroshima University, Japan) は「Induction and repair of DNA-protein cross-link damage」で講演された。放射線や ICL 誘導性薬剤 (MMC やアルデヒド類) などにより、DNA 鎖間架橋の他に DNA とタンパク質の架橋 (DPC) が生じる。架橋されたタンパク質 (CLP) を FITC ラベルし、フローサイトメトリーとウェスタンブロッティングにより解析したところ、アルデヒド誘導性 DPC は約 2〜3 日の半減期を持つのに対し、放射線誘導性 DPC はほとんど減衰することがなかった。そのため、安定性が高い DPC の多くは細胞周期を通じて DNA に深刻な作用を及ぼしていると推測された。次に、このような DPC がどのようなメカニズムで除去されるのかを解析した結果、塩基除去修復 (NER) によって処理されるのは 8-10kDa という小さなサイズの CLP であった。また、HR 機能欠損細胞では DPC による DSB が増大していたことから、DPC は HR によっても処理されるということがわかった。以上より、ゲノム DNA 上に DPC が生じると複製フォークが停止し ATR と NER 経路によってある程度は解消されるが、DPC により生じた DSB は HR によって修復された後に複製の進行が回復するというモデルが示された。

〈Session 5: Mechanism of DNA damage responses II〉

Andre Nussenzweig 博士 (NCI, NIH, USA) は「Identification of early replicating fragile sites that contribute to genomic instability in B cell lymphomas」で講演された。B リンパ球は AID (activation-induced cytidine deaminase) 依存的に G1 期に DSB 二重鎖切断が形成され、これが染色体転座の要因の一つと考えられるが、S 期に依存した DSB 形成の可能性も示唆されてきている。そのため、マウス脾臓より採取した B リンパ球を増殖刺激し、hydroxy urea (HU) で DNA 複製阻害後、RPA、DNA 修復関連因子のゲノム DNA 上への蓄積を網羅的に検討すると、S 期早期に複製が行われる領域にのみ蓄積していた。これらの蓄積領域は B cell lymphoma で知られる転座のホットスポットと一致し、HU 阻害からリリース後に見られる染色体断裂が起こる部位とも一致したことから、このような Early replication fragile sites が B リンパ球の染色体不安定性の要因の一つだと考えられる。



Dr. Andre Nussenzweig

Ciaran G Morrison 博士 (National University of Ireland Galway, Ireland) は「Pericentrin controls nuclear Chk1 activation」で講演された。中心体は Pericentriolar material (PCM) に包まれた 2 個の中心小体で構成されているが、主要構成因子以外に DNA 損傷応答因子を含めた様々な因子の機能が示唆されてきている。これらの関連因子の中心体での機能を明らかにするために、DT40 ノックアウト細胞を作製して解析すると、Pericentrin (*Pcnt*) をプロモーター部位でターゲティングして発現抑制すると、中心体形成は正常であるが、細胞増殖が低下し、M 期インデックスが上昇しており、IR 後の中心体異常が見られ、Chk1 のリン酸化が低下していた。一方、小頭症を示す遺伝病原因遺伝子で中心体機能が示唆される *Mcph1* のノックアウト細胞では中心体の過剰複製が見られるとともに、IR 後の Chk1 のリン酸化が正常 DT40 よりも増大していた。さらに、*Pcnt*, *Mcph1* のダブルノックアウト細胞で検討すると、IR 後の Chk1 のリン酸化が回復するとともに IR 依存的な中心体異常増幅が抑制されており、*Pcnt*, *Mcph1* は Chk1 活性を通して IR 後の中心体異常増幅の抑制に機能すると考えられる。



Dr. Ciaran G Morrison

James E Haber 博士 (Brandeis University, USA) は「The DNA damage checkpoint triggers autophagy to regulate the initiation of anaphase」で講演された。酵母

において DSB 損傷が発生すると細胞周期チェックポイント(主に G2/M)で停止し、DNA 修復を行い、それが完了すると細胞周期を再開する。しかし、DSB 修復が完了せずに損傷が残存した場合に長期にわたって、G2/M チェックポイントで停止するが、その後 adaptation として細胞周期を再開する。この adaptation 制御を解析するために、酵母では人工的に DSB を誘導できる HO endonuclease 系を利用した。HO endonuclease 切断部位と相同な配列が存在すると、DSB 切断後すみやかに HR 修復され、チェックポイント(Rad53 のリン酸化)は誘導されない。しかし、相同配列がない場合、DNA 修復できず、チェックポイントの活性化が起こるが、その後 adaptation により細胞周期を再開できる。このような実験系で遺伝子破壊株を用いて adaptation に機能する遺伝子を探索すると、DNA 修復に関わる遺伝子だけでなく、オートファジー関連遺伝子の関与も示唆された。オートファジーに機能する Golgi-Associated Retrograde complex (GARP)の一つ、vps51 欠損株では M 期進行を制御する因子、Esp1 (Separase)、Pds1 (Securin)が核局在できず、adaptation 欠損となった。しかし、ラパマイシン処理でオートファジーを強制的に活性化する、あるいは SV40 の核局在シグナル配列を融合させた Esp1 を発現させると adaptation が回復した。DNA 損傷発生時に Chk1 は Eps1/Pds1 経路を制御に機能することが知られるが、オートファジー関連遺伝子の dominant-negative mutant、ATG13-8SA を過剰発現させると、Chk1 の活性化は正常に起こるが、adaptation は抑制されたことから、DNA 損傷チェックポイント活性化がオートファジー経路を通して、M 期の進行、Adaptation に機能すると考えられる。



Dr. James E Haber

〈Session 6: Translesion DNA synthesis and related factors〉

Lee Zou 博士 (Harvard Medical School, USA) は、

「Spartan/C1orf124, a Reader of PCNA Ubiquitylation and a Regulator of Translesion DNA Synthesis」、Hiromi Yanagihara 博士 (RBC, Kyoto University, Japan) は「NBS1 initiates UV-induced translesion DNA synthesis」、Satoshi Tateishi 博士 (Kumamoto University, Japan) は「Rad18 contributes to prevention of tumorigenesis」、Patricia L. Kannouche 博士 (Université Paris-Sud, Institut Gustave Roussy, France) は「A novel pathway involving hMsh2-hMsh6 complex, mono-ubiquitinated PCNA and Pol eta in response to oxidative DNA damage in human cells」で講演された。



Dr. Lee Zou

Translesion DNA synthesis (TLS) では PCNA のユビキチン化がキーポイントになるが、Zou 博士と Yanagihara 博士はそれぞれ Spartan と NBS1 がこれを制御していることを示された。NBS1 は放射線高感受性を特徴とするナイミーヘン症候群の原因遺伝子産物であるが、Yanagihara 博士は電離放射線によらない DNA 損傷の細胞応答に NBS1 が重要な役割を果たしていることを示されており、大変興味深い。同様に、Zou 博士も NBS1 が ATM を介さずに ATR の活性化を促進する事を示され、NBS1 の研究が DSB 応答から他のダメージ応答へと広がりを見せている事が感じられた。逆に言えば、NBS1 はもともと放射線応答に特化したタンパク質ではなかったとも言えるわけであり、このタンパク質の機能の起源がどこにあるのかなど、興味は尽きない。PCNA のユビキチン化は TLS ポリメラーゼである pol η のリクルートメントに必要と考えられている。この考えに従えば、PCNA のユビキチン化酵素である RAD18 と pol η のそれぞれの機能欠損は似たような表現型をもたらすと予想される。ヒトでは pol η の欠損は XP-V (色素性乾皮症バリエーション群) を発症するが、これまで XP 患者で RAD18 の変異は見つかっておらず、その

点で疑問が残る。Tateishi 博士は RAD18 ノックアウトマウスが XP-V 患者のように紫外線によって皮膚がんになりやすいのかどうか調べ、確かに皮膚がんになりやすいということを示された。またそれだけではなく、自然発生がんの頻度が野生型よりも 2 倍高いということを示された。ただし、1 年以内のがん発生は全く認められなかった。がんのスペクトラムも異なっており、野生型の半数が肉腫を発症するのに対し、RAD18 ノックアウトマウスの 3/4 はリンパ腫を発症した。この偏りは非常に気になる点であるが、マウスの系統によって違いがないかなど、今後の課題であろう。RAD18 は DSB 修復に必要であるという報告もあるが、Tateishi 博士の発表では RAD18 ノックアウトマウスは放射線に感受性を示さないとのことであった。この結果からは PCNA のユビキチン化は放射線損傷応答に無関係のようにも考えられるが、続いて講演された Kannouche 博士は放射線による DNA 損傷の修復に PCNA のユビキチン化が関与することを示唆された。PCNA のユビキチン化は紫外線照射や複製阻害剤処理によって誘導されるが、これはほとんどが S 期に起こるものと考えられている。しかし、Kannouche 博士は G0 期で細胞周期が停止した細胞でも PCNA のユビキチン化が誘導される事をみだし、複製期に見られるユビキチン化とはカイネティクスが違う事も発見された。この PCNA のユビキチン化は過酸化水素処理によっても誘導され、おそらくは DNA 酸化損傷修復の後期ステップで行われる unscheduled DNA synthesis に伴うものだろうという事を示された。この過程にはミスマッチ修復タンパク質である Msh2 と Msh6 が必要であることも新たにわかり、酸化的 DNA 損傷の修復機構に新たな知見が加わったといえる。



Dr. Patricia L. Kannouche

最後に Martin Lavin 博士による Closing remark で今回のシンポジウムについて総括され、二日間のシンポジウムは盛況のうちに終了した。本年のシンポジウムは文部科学省「復興対策特別人材育成事業」の一環として開催され、若手研究者へのポスター発表が募集され、25 題のポスター発表、その中から選ばれた 12 題のショートトーク発表が行われた。ショートトークはプログラムの都合で質疑の時間はとられなかったが、ポスター発表セッションでは多くのポスターの前で活発な討論が行われていたことは印象的で、海外学会への参加の機会が少ない若手研究者にとって、海外で活躍される第一線の研究者と交流・議論できる又とない機会であったと思います。次回シンポジウムでもこのようなポスターセッションが行われることが望まれます。



ポスター発表セッション

(文責：石合、海野、加藤、高堂、中瀬、野村、藤本、松田、柳原、小林)

【ミニレビュー】

DNA 二重鎖切断の修復遺伝子クローニングの歴史

1) はじめに

電離放射線の照射を受けたほ乳類細胞が回復することは、1950年代には既に明確になっていた (Elkind M, Nature, 1959)。その分子基盤である DNA の障害に関しては、アルカリ性しょ糖密度勾配遠心法をもちいて大腸菌の一重鎖切断が再結合されることが 1966 年に報告されている (McGrath RA, Nature, 1966)。しかし、同年に大腸菌 DNA の二重鎖切断は再結合できないことが報告され (Kaplan HS, Proc Natl Acad Sci USA, 1966)、この欠損が放射線による細胞死の直接の原因であると長い間信じられてきた。私が学生時代に教わった放射線生物学では二重鎖切断は再結合しないことになっていた。私だけでなく Chadwick-Leenhouts による直線-二次曲線不活化モデルでも、DNA 二重鎖切断が決定的な損傷であると想定して理論が組み立てられている (Chadwick KH, Phys Med Biol, 1973)。二重鎖切断の再結合の可否の混迷が続いたのは、細胞 DNA が長く (ほ乳類では一本の染色体 DNA の長さは数 cm)、生死にかかわる 1 個や 2 個の二重鎖切断を直接測定する手段を持たなかったことによる。ほ乳類細胞の DNA 二重鎖切断が生理的な状態で再結合するのか、するとしたらどのような機構なのかの明確な解答を得るには、下記の DNA 二重鎖切断修復の XRCC 遺伝子やヒト遺伝病遺伝子およびそれらの関連遺伝子がクローニングされる 1990 年代まで待たなければならなかった。

2) 放射線感受性 XRCC 細胞

佐藤 (放射線医学総合研究所) らは、マウスリンパ腫細胞 L5178Y をアルキル化剤 MNNG で処理後に得られた約 10,000 個のクローンから、1 個の MMS 感受性の変異体 M10 をスクリーニングした。M10 は MMS だけでなく放射線にも顕著な高感受性を示した (Sato K, Radiation Res, 1979)。その後 1980 年代にかけて多くの放射線感受性細胞が欧米で作製され、細胞融合を用いた相補性試験により XRCC1- XRCC11 (X-ray cross-complementing: XRCC) の 11 グループに分類された (表 1)。やがて、Thompson (ロ

ーレンスリバモア-国立研究所) は EM9 細胞にヒト遺伝子ライブラリーを導入してスクリーニングした結果、放射線感受性に関与する遺伝子 XRCC1 のクローニングに成功した (Thompson LH, Mol Cell Biol, 1990)。しかし、XRCC1 は Lig3 とともに塩基除去修復や一重鎖切断の修復に機能する遺伝子である。厳密な意味で DNA 二重鎖切断の修復遺伝子としては Jeggo (サセックス大学) らによりクローニングされた XRCC5/Ku80 が初めての DNA 二重鎖切断の修復遺伝子であるといえる (Taccioli GE, Science, 1994)。Thompson は XRCC1 以外にも、XRCC2、XRCC3 と XRCC9 のクローニングにも成功している。Thompson だけがこのような成功を収めた理由は最近発表された review (Thompson LH. DNA Repair, 2012) を参照頂きたい。この中で、Thompson が実験に使用する細胞を、染色体数が一定しないマウス L 細胞から、近二倍体ハムスター CHO 細胞に早めに (1974 年頃) に代えた決断が大きな成功に導いたと個人的には思っている。このような 1990 年代に行われた放射線感受性 XRCC 細胞の研究は相同組み換えと非同末端再結合に関わる下記の遺伝子クローニングに大きく貢献した (表 1)。

表 1. XRCC 細胞と原因遺伝子

Repair pathway	Gene symbol	Mutant cell line	Gene cloning
BER	XRCC1	EM7, EM9 (Thompson LH, 1982) EM-C11 EM-C12	Thompson Lab, 1990
HRR	XRCC2 XRCC3 RAD51L2/ RAD51C 4 XRCC11/BRCA2 XRCC9/FANCG	Irs1 (Thacker, 1987) Irs15F (Painter, 1988) CL-V4B, Irs3 V-C8 UV40 (Thompson LH, 1996)	Thacker Lab, 1998 Thompson Lab, 1998 Thacker Lab, 1998 Thompson Lab, 1997
NHEJ	XRCC4 XRCC5/Ku80 XRCC6/Ku70 XRCC7/PRKDC LIG4	XR-1, M10 (Sato, 1979) XrsSeries (Jeggo et al, 1983) XR-VB Series sxi-2, 3 knockout mouse cells V3, Bcid, Irs20, X9, XR-C1, XR-C2 SX10	Alt Lab, 1998 Jeggo Lab, 1994 Anderson CW, 1995 Alt Lab, 1998
Other	XRCC8	Irs2, V-C4, V-E5, V-G8, CM3, CM6	Not determined

3) ヒト放射線感受性疾患

毛細血管拡張性運動失調 (A-T) は 1926 年以前に既に世の中に知られていたようである (Syllaba L, Rev Neurol, 1926)。A-T が放射線感受性であることが分かったきっかけは、患者に発症したリンパ腫を放射線治療したときに副作用の結節性硬化症が顕著に観察された臨床報告である (Gotoff, SP, Am J Dis Child, 1967)。その後、Taylor (バーミンガム大学) により患者の培養線維芽細胞を用いて放射線感受性が確認された (Taylor AM, Nature, 1975)。これは佐藤らにより放射線感受性 XRCC 細胞が報告されるよりも古い、その遺伝子クローニングは XRCC 細胞と同時期まで待たなければならなかった(表 2)。A-T 遺伝子クローニングの重要性は、Kastan (ジョンズホプキンス大学) により報告された「患者細胞では p53 リン酸化が起こらない」により、A-T 研究者以外の分子生物学研究者にも注目するところとなった (Kastan MB, Nature, 1992)。Kastan の発表は 1992 年にロスアンジェルス市近郊で開催された A-T ワークショップ参加者にも大きな刺激を与えた。既に、ワークショップ開催の時には Gatti (カリフォルニア大学ロスアンジェルス校) らの家系解析により 11q23 に遺伝子マッピングされていた (Gatti RA, Nature, 1988) が、ワークショップ 2 年後の 1994 年には 850kb まで候補領域が狭まった。最終的には、1995 年に Shiloh (テルアビブ大学) らにより同領域から ATM 遺伝子がクローニングされた (Savitsky K, Science, 1995)。一方、ナイミーヘン症候群は比較的歴史が新しく、1981 年にナイミーヘン大学の Weemaes により放射線感受性疾患として報告された (Weemaes, C, Acta Paediat Scand, 1981)。1997 年には、小松やドイツのグループにより 8 番染色体上に遺伝子がマッピングされていたが (Matsuura S, Am J Hum Genet 1997; Saar K, Am J Hum Genet 1997)、翌年に日本、米国、ドイツのグループによる染色体移入法、蛋白複合体解析、家系分析のそれぞれ異なる方法で独立に NBS1 遺伝子がクローニングされた (Matsuura S, Nature Genet 1998; Varon R, Cell 1998; Carney JP, Cell 1998)。ATM も NBS1 も、人工的に作製した XRCC の原因遺伝子と重複していない。また、XRCC 遺伝子と違い、

不思議なことに ATM も NBS1 も相同組み換えと非同末端再結合の両方で機能する蛋白である。このように、放射線感受性 XRCC 細胞とヒト疾患の解析で異なる性格の遺伝子が発見されたことから、両方の研究が両輪としてこの分野の発展に貢献したと言える。

表 2. ヒト疾患の遺伝子クローニング

Human disease **	Gene symbol **	Gene cloning **	others **
Ataxia-telangiectasia **	ATM **	Shiloh Y Lab (1995) **	Linkage analysis: Mapping to 11q23 (Gatti RA, Nature1988) Defect in p53 phosphorylation in A-T cells (Kastan MB, Nature 1992)
Nijmegen breakage syndrome **	NBS1 **	Komatsu Lab (1998) Petrini Lab (1998) Sperling Lab (1998)	Mapping to 8q21: Matsuura S, Am J Hum Genet (1997) Saar K, Am J Hum Genet (1997) **
Bloom's syndrome **	BLM **	German J Lab (1995) **	
Fanconi anemia **	FANCC FANCD2 **	Buchwald Lab (1992) Grompe M Lab (2001) **	

4) あとがき

XRCC と類似の紫外線感受性細胞 ERCC1 から遺伝子がクローニングされたのは 1986 年であり (van Duin M, Cell, 1986)、紫外線感受性のヒト遺伝病から XPA がクローニングされたのは 1990 年である (Tanaka K, Nature, 1990)。紫外線損傷と比較して放射線損傷の修復遺伝子のクローニングはずいぶん遅れていると思ったが、今振り返るとわずか 4-5 年の遅れである。当時は放射線生物学の遅れを指摘されているようでこの領域の将来を危ぶんだが、最近の分子レベルでの放射線生物学の活発な研究展開を目にすると私の取り越し苦労のようであった。

尚、本稿は日本放射線影響学会第 55 回大会 (仙台) シンポジウム「放射線生物学の温故知新」での発表内容の一部に加筆したものである。



小松 賢志
京都大学放射線生物研究センター
ゲノム動態研究部門 教授

【放生研の研究活動紹介】

ファンconi貧血の中心タンパク質 FANCD2 のヒストンシャペロン活性は DNA クロスリンク修復に必要である

私達は京大放生研の重点領域研究第1領域のプロジェクトの一環として、早稲田大学・胡桃坂仁志教授の研究室とファンconi貧血 (Fanconi anemia: FA) タンパク質の研究を行っており、最近その成果の一部を論文発表しましたので、ご報告します (Sato K., Ishiai M., et al. EMBO J., 31, 3524-3536, 2012)。

FA はゲノム不安定性症候群に分類される稀なヒトの遺伝性疾患であり、DNA クロスリンク (ICL) 修復に欠損のある疾患として知られる。FA 患者は、骨格形成異常、進行性骨髄不全、高発がん性などを特徴とする。FA 患者細胞は染色体の異常を示し、放射線、紫外線などに弱い感受性を示すが、最大の特徴は、臨床で抗がん剤として使用されるマイトマイシン C (MMC) やシスプラチンなどの ICL 薬剤への高感受性である。

FA は現在 15 個の原因遺伝子 (FANCA, FANCB・・・と呼ばれる) が知られており、生体内で FA 経路と呼ばれる単一の DNA 損傷応答・DNA 修復経路を構成する (図1)。

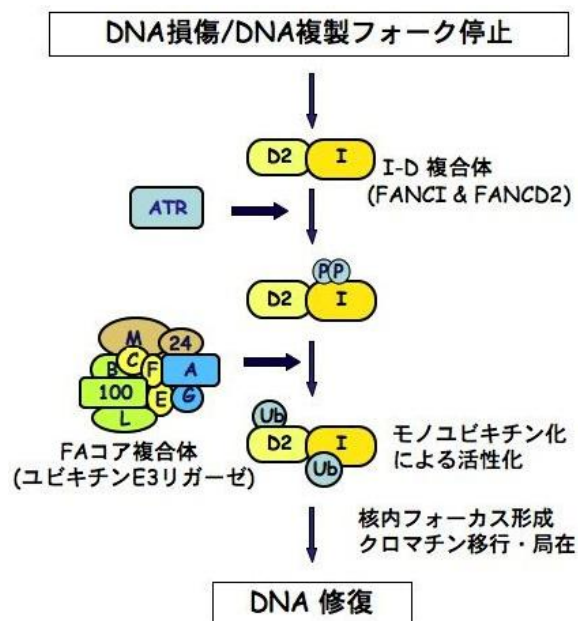


図1 FA経路

FA 経路の中心分子は FANCD2 と FANCI であり、両者は複合体を形成する (I-D 複合体)。FA 経路が活性化されると、I-D 複合体は、FA コア複合体 (8 個の FA 遺伝子産物からなるユビキチン E3 リガーゼ) によりモノユビキチン化される。FANCD2 のモノユビキチン化は FANCD2 のクロマチン局在と核内損傷局所への集積 (フォーカス形成) に必要なシグナルで、機能的には相同組換え (HR) と損傷乗越え複製 (TLS) 機構による DNA 損傷応答、DNA 修復に必須である。従来の研究から、FANCD2 の DNA 修復機能はクロマチン上で発揮されることがこれまで知られているが、FANCD2 タンパク質の DNA 修復機能の分子実体は実際のところまだ良くわかっていないのが実状である。

今回、我々は FANCD2 がヒストンシャペロン活性を持つことを見いだした。研究の発端は、共同研究者の早稲田大学の胡桃坂研究室からもたらされた。彼らはヒト HeLa 細胞からヒストン H3/H4 結合分子をプロテオーム解析で探索し、その候補分子として FANCD2 を同定した。我々は逆に FANCD2 複合体のプロテオーム解析でヒストンが含まれることを以前から知っていた (ただ我々はクロマチン画分を材料に解析しており、クロマチンに最も多量に存在するヒストンはコンタミの可能性が否定できないため、その結果をあまり本気にしていなかった)。実際にヒト FANCD2 タンパク質を精製し、ヒストン H3/H4 ビーズを用いて結合を検出すると、ヒストンとの結合が確認された。

FANCD2 のヒストン結合の汎用性を調べるため、トリ FANCD2 を 293T 細胞で発現させ、細胞抽出液を用いてヒストン H3/H4 との結合を調べると、結合が確認された。欠失変異体を用いた解析により、その活性は FANCD2 の C 末端領域 (1268-1389 アミノ酸部位) に担われることを見いだした。また、精製した FANCD2 タンパク質が *in vitro* でクロマチンの最小単位であるヌクレオソームを形成する活性をもち、

その活性はヒストンシャペロン活性とよく一致した。欠失変異体では FANCD2 タンパク質の構造に影響し機能欠損がおこっている可能性が排除できないため、ヒストン結合領域内の種間の保存性を考慮し、アラニン置換点突然変異体を作成した。その中で R1336A/K1346A 変異体はヒストン結合とヌクレオソーム形成活性が著減しており、FANCD2 の C 末端領域にヒストンシャペロン活性が担われるという結論を支持する。FANCD2 のヒストンシャペロン活性の著減する変異体は *fancd2* 欠損 DT40 細胞のシスプラチン高感受性を相補することができず、FANCD2 のヒストンシャペロン活性と FANCD2 の DNA 修復活性はよく一致し、細胞内で FANCD2 の DNA 修復機能に重要であると結論される。

FANCD2 がヒストンシャペロン活性を持つならば、生細胞内でのヒストンの動態に FANCD2 が関与することが期待される。このためヒト HeLa 細胞に GFP-ヒストン H3 を発現させた細胞を構築し、フォトブリーチ法でヒストン分子の動態を検討した。siRNA による FANCD2 ノックダウン細胞と対照細胞を比較すると、ICL 損傷を与える MMC 非存在下では顕著な差はみられないが、FANCD2 ノックダウン細胞では MMC 処理後のヒストン H3 分子の挙動が著減するのが観察された。つまり、生細胞内での DNA 損傷依存的なヒストンの動態に FANCD2 が関与することが示された。

マウス FANCD2-FANCI 複合体で決定された立体構造モデルに FANCD2 のヒストン結合領域を当てはめると、FANCD2 の最も外側に位置する (図 2)。また、我々はヒストンシャペロン活性が著減したヒト FA 患者由来の変異体も同定したが、その変異は図 2 のヒストン結合領域近傍に位置する。

FANCD2 タンパク質と強固な二量体を形成する FANCI タンパク質自身は活性を示さないが、FANCI は FANCD2 のヒストンシャペロン/ヌクレオソーム・アセンブリー活性を促進させる効果を示した。以上の結果は、FANCD2-FANCI が DNA 修復におけるクロマチン動態を直接制御することを強く示唆している。今後クロマチン動態制御の結果としてどのような分子機構が発動・制御されるのか、その実体を明らかにしていきたい。

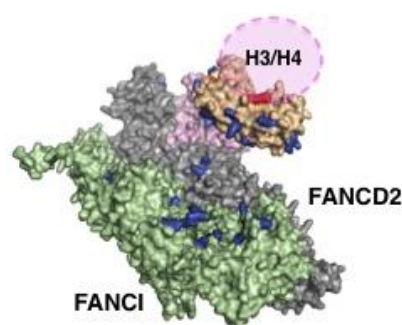
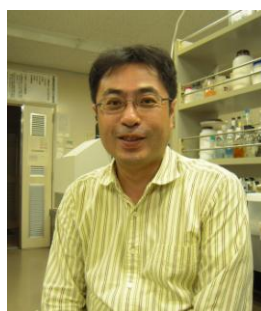


図2 FANCD2のヒストン結合領域



石合正道
京都大学放射線生物研究センター
晩発効果研究部門
准教授

放生研からのお知らせ

【平成 25 年度共同利用研究・重点領域研究の募集】

京大放生研第 16 号
平成 24 年 11 月 9 日

関係各研究機関の長 殿

京都大学放射線生物研究センター長
松 本 智 裕 (公印省略)

平成 25 年度共同利用研究（通年・上半期）の公募について

京都大学放射線生物研究センターでは、共同利用研究事業として放射線生物学に関する共同利用を行っております。

つきましては、下記により共同利用研究を公募いたしますので、貴機関の各研究者に周知くださるようお願いいたします。

記

- 1 申請資格** 大学・研究機関の正規の職員又はこれに準ずる研究者。（大学院生は、研究協力者に含めることができます）ただし、研究計画に参加する研究者のうち、実際に放射性同位元素を取り扱う者は、その所属機関において法令に定める放射線作業従事者として登録・管理され、必要な教育訓練等を受けている者でなければならない。
また、組換え DNA を取り扱う場合にも、所属機関等において組換え DNA 操作作業従事者として登録・管理されている者でなければならない。
- 2 研究期間** 平成 25 年 4 月 1 日からの研究計画について行うものとする。
なお、共同利用研究の公募は、原則として半年毎に行います。
- 3 提出書類** 所定の様式による「共同利用研究申請書」を所属機関の長を通じ 2 通（1 通はコピーでも可）提出するものとする。（誓約書は各自一通お願いいたします）
なお、希望する研究課題に関して、円滑な研究活動が可能となるよう所内連絡者（当センターの職員）を指定しあらかじめ連絡を取って、応募すること。
申請書は <http://house.rbc.kyoto-u.ac.jp/Information/kyodoriyo.html> よりダウンロードしてご使用ください。
- 4 申請期限** 平成 25 年 1 月 18 日（金）必着のこと。
（「共同利用研究申請」と封筒に表記のこと。）
- 5 提出先** 〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町
京都大学放射線生物研究センター 事務掛
電話（075）753-7551
- 6 採 否** 当センターの運営委員会の議を経てセンター長が採否を決定し、平成 25 年 3 月中旬までに申請者に連絡します。
- 7 その他** 研究代表者は、研究終了後、研究経過報告書を提出するとともに、研究発表等（口頭発表・論文発表）については、所内連絡者の指示に従ってください。

関係各研究機関の長 殿

京都大学放射線生物研究センター長
松 本 智 裕 (公印省略)

重点領域研究の公募について

京都大学放射線生物研究センターでは、22 年度より共同利用・共同研究拠点の活動の一環として、重点領域研究を設定し、共同研究への参加を公募します。我が国における放射線生物学のさらなる発展と、この分野で予想される今後の動向、さらに社会的ニーズ等を考慮の上、下記の 2 つの研究領域を設定いたしました。それぞれの領域について、当センターで現在進行中、あるいは想定される研究内容を記載しましたが、各領域の趣旨に沿うものであれば、提案される研究内容は強く制限いたしません。また二つの領域にまたがる研究でも構いません。

重点領域の共同研究者は、当センターの実験施設を優先的に使用することができます。若手の共同研究者には、研究費、旅費等の支援をいたします。また重点領域の共同研究者を核とした研究チームを編成し、大型研究予算の獲得を目指します。

参加ご希望の方は、「重点領域研究申請書」にご記入の上、1 月 18 日（金）までに申請書をお送り下さい。

提出先：〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町 京都大学放射線生物研究センター 事務掛
（「重点領域研究申請書」と封筒に表記のこと。）

申請書は <http://house.rbc.kyoto-u.ac.jp/Information/jyuten22.html> よりダウンロードしてご使用下さい。

重点領域研究

第一領域

タイトル：放射線応答を通じた生体の多様性の解明

趣旨：放射線をはじめとする種々のゲノムストレスに対する応答は、生物種、遺伝学的背景、組織特異性、さらに細胞分化の度合い（体細胞 vs 幹細胞）等によって大きく左右されます。このような相違を引き起こす要因と分子機構を種々の手法（プロテオミクス、SNP 解析、遺伝学的スクリーニングなど）により解明し、放射線応答ネットワークの進化と適応について理解を深めることを目的とします。さらに放射線防護、リスク評価、放射線癌治療、また放射線感受性遺伝性疾患の治療への応用も期待します。ヒト細胞における DNA 損傷応答の多様性の解明は、放射線や化学療法による癌治療の戦略策定に分子基盤を与える重要な課題です。本研究では、効率の高い疾病治療法の創出に向けての展開も視野に入れます。

第二領域

タイトル：低線量（率）放射線に対する生物応答

趣旨：近年の研究から、低線量放射線によって誘導されうごく少数の DNA 損傷が、幹細胞からの分化・組織構築を介して個体の運命に影響を及ぼす可能性が示唆されています。それ故、本研究領域では、放射線生物研究センターの主要設備である低線量長期放射線照射装置を基軸に、細胞微小環境の放射線影響に与える重要性に焦点を当て、低線量（率）放射線の生物組織への作用を解析することを目指します。また、低線量放射線の生物影響を評価するためのモデル動物・細胞系の構築も、合わせて計画しています。

共同利用申請のための参考資料

京都大学放射線生物研究センターにおける個々のスタッフの研究テーマ及び共同利用可能な機器は以下のとおりです。申請に際しては、これを参照のうえで放生研スタッフ(所内連絡者)とご相談のうえお申し込みください。

部 門	氏 名	研 究 領 域
放射線システム 生物学研究部門	教 授 松本 智裕 助 教 土生 敏行	細胞周期チェックポイントの分子機構と放射線感受性 DNA 損傷チェックポイントと細胞死制御の分子機構
突然変異機構 研究部門（第1分野） （第2分野）	准教授 井倉 毅 講 師 古谷 寛治	DNA 損傷領域のクロマチン制御機構 DNA 損傷ストレス時の細胞周期・増殖制御機構
晩発効果 研究部門	教 授 高田 穰 准教授 石合 正道	DNA 損傷シグナルのメカニズム DNA ダメージ修復の分子機構
ゲノム動態 研究部門	教 授 小松 賢志 准教授 小林 純也	DNA 二重鎖切断の修復タンパクの機能 DNA 二重鎖切断の検知認識機構の解析
核酸修復（客員） 研究部門	教 授（併）立花 章 准教授（併）中山 潤一	放射線誘発突然変異生成の分子機構 核酸修復と突然変異
放射線類似作用 （客員）研究部門	教 授（併）藤堂 剛	放射線類似物質による突然変異生成の分子機構

共同利用可能主要機器（順不同）

a) 放射線照射装置

- | | | |
|------------------------|-------------------|-----------------|
| 1. X線照射装置（250kvp 15mA） | 2. 軟X線照射装置（50kvp） | 3. 紫外線（UVC）照射装置 |
| 4. アルファ線照射装置 | 5. 低線量長期放射線照射装置 | 6. ガンマ線照射装置 |

b) 細胞培養装置

- | | | |
|------------|-----------------|---------------|
| 1. クリーンベンチ | 2. 炭酸ガスインキュベーター | 3. コールターカウンター |
|------------|-----------------|---------------|

c) その他

- | | |
|-----------------------------|-----------------------------------|
| 1. DNA シーケンサー（ABI キャピラリー式） | 2. 液体シンチレーションカウンター |
| 3. BAS2500 イメージアナライザ | 4. ライカ蛍光顕微鏡 |
| 5. DNA 増幅装置 | 6. 超遠心機（ベックマン） |
| 7. 二次元電気泳動装置 | 8. 共焦点レーザー顕微鏡（ライカ TCS SP5） |
| 9. Pro XPRESS 2D(蛍光イメージャー) | 10. BD FACS Calibur HG フローサイトメーター |
| 11. リアルタイム PCR 装置（A B 7500） | 12. オリンパス倒立蛍光顕微鏡（I × 8 1） |

【平成 24 年度下半期共同利用研究の追加採択】

番 号	研 究 課 題	氏 名	研 究 者	所 属
27	食道扁平上皮癌における EGFR を標的とした分子標的治療による放射線感受性増強効果について	大橋真也	4	京大・医学研究科
28	低レベル放射線が間葉系幹細胞の分化に与える影響の解析	Georgina Salazar	2	筑波大学・医学医療系
29	骨髄キメラモデルを用いた肩腱板修復における骨髄由来幹細胞の分化の解明	森原 徹	5	京都府立医科大学
30	放射線照射における概日リズム関連遺伝子の制御機構の解明	三木貴雄	1	京大・医学研究科

【平成 24 年度 第 1 回協議員・運営委員会議事録】

日時：平成 24 年 9 月 4 日（火）14：00～16：00

場所：楽友会館 1 階会議室

出席者：協議員・運営委員 17 名、オブザーバー 1 名、事務職員 2 名

1. 前回議事録（案）について

センター長から、前回の議事録（案）について説明が行われ、承認された。

2. 報告事項

(1) 平成 24 年度放生研各種委員について

センター長から、前年度まで協議員・運営委員をお願いしていた工学研究科の西本教授が退職され、その後任に、生存圏研究所の宮越特定教授をお願いした旨の紹介が行われた。

(2) 放生研の震災復興への取り組みについて

① センター長から、本年度、新たに採択された文部科学省の「国際原子力人材育成イニシアティブ事業」について、補助事業の目的、内容および本年度の実施スケジュール等について、報告が行われた。

② 渡邊特任教授から、本年度、新たに採択された JST「科学技術コミュニケーション推進事業」について、事業の目的、目標および方法等について、報告が行われた。

(3) 第 28 回放生研国際シンポジウムについて

世話人である小松教授から、シンポジウムを平成 24 年 11 月 29 日、30 日の 2 日間、コープ・イン・京都で開催すること、タイトルを「DNA 修復ネットワークと放射線損傷」にしたこと等について、報告が行われた。

(4) 全学経費について

① センター長から、平成 24 年度の概算要求で認められた、「放射線・薬剤応答自動記録装置」に、今回、全学経費で認められた、「自動分注システム」と「搬送ロボット対応型定温培養器」を付加することで、ほぼ、自動化が可能になるとの報告が行われた。

② センター長から、今回、全学経費で認められた、「放射線生物医学次世代リーダーへのガイダンス事業」について、事業の概要、期待される成果等について、報告が行われた。

(5) 第 5 回琵琶湖勉強会について

センター長から、7 月 27 日～29 日に開催された琵琶湖勉強会について報告が行われた。また、参加

者 19 名の内、放生研の学生が 11 名、それ以外から 8 名と、学外からの参加者の割合が高くなってきたとの報告が行われた。

3. 審議事項

(1) 平成 24 年度共同利用研究（下半期）の採択について

センター長から、申請のあった共同利用研究の 5 件について説明があり、審議の結果、承認された。また、平成 24 年度共同利用研究の採択 26 件の内、学内 10 件、学外 16 件と、学外からの利用がかなり多いとの報告が行われた。

(2) 教職員の兼業に関する内規の改正について

押谷総務掛長から、内規改正の趣旨等について説明があり、審議の結果、承認された。

4. その他

① 小林准教授から、放生研の RI 管理の現状について報告が行われ、将来どのような管理体制にするのがよいか意見交換が行われた。

② 小林准教授から、放生研の将来計画専門委員会の現状について報告が行われ、委員構成について意見交換が行われた。

③放射線関係の若手研究者が減少していることから、その取り込み方法について意見交換が行われた。

放射線生物研究連絡会議からのお知らせ

【放生研各種委員会委員候補者の選挙について】

今年も選挙の時期になりました。下記の各種選挙をお願い致します。昨年と同様に、共同利用専門委員候補および将来計画専門委員候補は、運営委員により選出された下記の候補者より選出していただきます。

A. 運営委員候補者の選出について

放射線生物研究連絡会議推薦の「放射線生物研究センター運営委員候補」を投票により選出します。本連絡会議は言うまでもなくセンターの共同利用を志す利用者グループであり、その代表をセンターの運営に直接参加させる事は、共同利用のために極めて重要です。センターの運営委員会は京大内部の教員に加えて、同人数の京大外の人々をもって構成されています。

(選挙要領)

1. 同封の運営委員候補の投票用紙に、有権者名簿より 3 人を選び記入して下さい。
2. 記入の済んだ投票用紙を同封の「投票用紙入れ」と書かれた小封筒に封入し、さらに大封筒に入れてご返送下さい。小封筒には差出人氏名を記さず、大封筒には差出人氏名を必ず記入して下さい。(投票は会員状況の把握や放生研ニュースの発送先の確認ともなっておりますので御協力下さい。) また小封筒に、他の選挙の投票用紙（共同利用専門委員候補者、将来計画専門委員候補者）も一緒にお入れ下さい。
3. 投票の締切りは平成 25 年 1 月 21 日（月）（消印有効）
4. 被選挙人資格について
 - (a) 放射線生物研究連絡会議会員であること。同封の名簿より選出して下さい。
 - (b) 京都大学の先例により、教授および准教授またはそれらに相当する職にある人が望ましい。
 - (c) 京都大学に所属する会員（研究所、各学部、センター）を除く。
 - (d) 非改選の運営委員 4 名（島田義也、田内広、松本義久、宮川清の各氏）を除く。
 - (e) 日本放射線影響学会選出の運営委員の續輝久氏を除く。
 - (f) 連続 2 期選出の田代聡、三谷啓志の両氏を除く。
5. 同一名の重複記入、4 名以上の氏名記載および小封筒に投票者の氏名が記載されている場合は無効とする。

以 上

平成 24 年 12 月 14 日

運営委員候補選挙管理委員会

B. 共同利用専門委員候補者の選出について

共同利用専門委員会とはセンター主催のシンポジウム、ワークショップや来所共同利用研究など共同利用のため企画、立案、実施にたずさわる専門委員会（任期2年）で、運営委員（2名）、センター（4名）、連絡会議（6名）の計12名により構成されます。

（選挙要領）

1. 下記の共同利用専門委員選出候補者6名のうち3名を選び投票用紙に○印を記入して下さい。

（アイウエオ順）

児玉靖司、鈴木啓司、高橋昭久、續輝久、松本英樹、三谷啓志

2. 記入された投票用紙を「投票用紙入れ」と書かれた小封筒に封入し、さらに放生研センター宛の大封筒に入れてお送り下さい。
3. 投票の締切りは平成25年1月21日（月）（消印有効）
4. 被選挙人資格について
 - (a) 放射線生物研究連絡会議会員であること。
 - (b) 放生研センター所属の会員を除く。
5. 4名以上の○印の記入は無効とする。

以 上

平成24年12月14日

共同利用専門委員候補選挙管理委員会

C. 将来計画専門委員候補者の選出について

将来計画専門委員会は、概算要求の作成を含め、広く放生研の将来計画の立案、審議に携わる委員会です。本委員会は運営委員（4名）、センター（2名）、連絡会議（2名）、若手放射線生物学会研究会（1名）の計9名で構成されます。

（選挙要領）

1. 下記の将来計画専門委員選出候補者3名のうち1名を選び投票用紙に○印を記入して下さい。

（アイウエオ順）

藤堂剛、松本義久、宮川清

2. 記入された投票用紙を「投票用紙入れ」と書かれた小封筒に封入し、さらに放生研センター宛の大封筒に入れてお送り下さい。
3. 投票の締切りは平成25年1月21日（月）（消印有効）
4. 被選挙人資格について
 - (a) 放射線生物研究連絡会議会員であること。
 - (b) 放生研センター所属の会員を除く。
5. 2名以上の○印の記入は無効とする。

以 上

平成24年12月14日

将来計画専門委員候補選挙管理委員会

【放生研日誌】

- 9 月 27 日 太田 智彦 教授（聖マリアンナ医科大学）セミナー
「BRCA1 機能不全と化学療法感受性」
- 10 月 1 日 所員会議
- 11 月 5 日 所員会議
- 11 月 12 日 和歌山県立桐蔭中学校来訪
- 11 月 12 日 平成 25 年度共同利用研究・重点領域研究の募集開始
- 11 月 16 日 フランス原子力庁来訪
- 11 月 29
-30 日 第 28 回 RBC-NIRS 国際シンポジウム（京都）
- 11 月 30 日 放射線生物研究センター外部評価会
- 12 月 3 日 所員会議
- 12 月 17 日 華頂女子高等学校来訪
- 12 月 21 日 大掃除・所内忘年会
- 12 月 26
-28 日 「放射線生物学へのイザナイ」（千葉）



【編集後書き】

今年の京都は朝昼の寒暖の差が大きかったこともあり、ことのほか紅葉が見事でした。秋たけなわの 11 月 29-30 日に第 28 回 RBC-NIRS 国際シンポジウムが京都市内で開催されました。海外招待者 12 名を含め、米国、英国、フランス、オーストラリア、アイルランド、ブラジル、インド、日本の 8 カ国 126 名の参加者により先端研究についての活発な発表討論が行われました。また、若手研究者の発表枠を設定したおかげか、若手研究者と大学院生の姿が目立ったシンポジウムとなりました（<http://house.rbc.kyoto-u.ac.jp/sympo/28th/album/> に写真掲載）。シンポジウムを成功に導いた講演者および座長、そして本施設の職員・学生さんご苦労様でした。シンポジウムの発表概略を本号に掲載しました。

今週末から講演会・授賞式のノーベル賞 week が始まります。今回のもっとも大きなニュースは山中伸弥・京都大学教授の受賞でしょう。実は、私の教室で学位を取得した卒業生と山中研の職員との結婚式があった、その 2 日後（10 月 9 日）の受賞ニュースでした。結婚式で同席した山中研の研究者はその後マスコミに追いつけられて大変だったろうと同情します。しかし、彼らの発見は学術的にも我々の社会にとっても大変なインパクトを与えています。これは個人的な意見ですが、生物学者が俗に言う「個体発生は系統発生を繰り返す」の立場から考えると、系統発生の珠玉の成果がダーウィンの業績とすれば、個体発生での山中教授の業績はそれに肩を並べる研究成果です。これまでのノーベル生理医学賞の研究成果がくすんでしまう大発見と言ったら言い過ぎでしょうか。また、この発見が我が国で成し遂げられたことに誇りを感じます。福島原発事故と長い経済不況で自信をなくしている我々日本人技術者・研究者を元気づけるこれ以上の妙薬はありません。