

# RBC 放生研ニュース NEWSLETTER

No. **165**  
JUN  
6, 2019



## Contents

センター長就任のご挨拶	2
ミニレビュー	2
DNA 障害型抗がん剤感受性の重要決定因子 Schlafen 11 (SLFN11) ~More SLFN11 More Drug Sensitivity~	
Rad52、XPG を介した R-loop 構造の処理機構が転写共役型相同組換え修復を誘導しゲノムの正確な維持に寄与する	
平成31年度 新人紹介	8
日本放射線影響学会 第62回大会のお知らせ	12
編集後記	12

センター長就任のご挨拶

2019年(平成31年)4月1日付けで、高田穰教授の後任として放射線生物研究センター長を拝命致しました原田浩です。1976年(昭和51年)の当センター設立時に、菅原努先生が初代センター長にご就任されて以来、私で12代目となります。たいへんご高名な先生方がセンター長として積み上げてこられた歴史を、浅学な私が引き継ぎ、さらに発展させることが出来るのかと不安を感じておりますが、精一杯職務を全うする所存です。



当センターは、1954年に米国の水爆実験Bravoで我が国の遠洋漁船・第五福竜丸(参考:都立第五福竜丸展示館ホームページ<http://d5f.org/>)の乗組員が放射線被ばくしたことに端を発し、日本学術会議から国への勧告に基づいて「放射線の生体影響に関する基礎研究を行うこと、および国内外の研究者の交流と共同研究を推進すること」を目的に附置されました。設立当時は、放射線障害の実体がDNA損傷による染色体異常であることも議論の対象であった時代ですが、後に分子生物学の研究技術が急速に発展した背景の下、当センターは放射線障害の分子基盤解明に貢献してきました。また、福島原子力災害で改めて注目されることとなった放射線の生物影響に関し、我が国でも数少ない低線量・低線量率放射線照射装置などで放射線影響研究を支えてきました。

2018年(平成31年)4月に京都大学大学院生命科学研究科と統合して大きな節目を迎え、さらに2年後の2021年に共同利用・共同研究拠点の期末評価を控える中、当センターの在り方を再考する必要があると考えています。例えば、生命科学研究科のもつ研究設備と人的リソースを活かして、放生研の共同利用・共同研究拠点体制を強化し、放射線生物学の多様化に対応することが重要と考えます。また、生物の放射線応答を担う責任因子の解析において、従来は因子ごとに深く掘り下げられてきましたが、今後は、その手法を継承しつつも、各因子の知見を統合して放射線応答をゲノムワイドにネットワークとして捉えるなど、時代に即した研究プラットフォームを提供する必要があるでしょう。さらに、当センターの設立当初より重要性が謳われてきた国際ネットワークの形成に関しては、研究と人材育成を活性化するハブとしての機能を強化する必要があるでしょう。

このような活動を具現化するためには、当センターの教員が一丸となるのみならず、当センター運営委員、共同利用研究者、関連研究領域の先生方、ならびに京都大学大学院生命科学研究科の先生方からのご支援が不可欠です。皆様方からのご指導・ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

京都大学大学院生命科学研究科  
附属放射線生物研究センター長  
原田 浩

ミニレビュー

## DNA障害型抗がん剤感受性の重要決定因子Schlafen 11 (SLFN11) ~More SLFN11 More Drug Sensitivity~

### はじめに

Precision Medicine (患者の個別の情報に基づいた治療)は、数年前から医療界、特にがん治療の分野では現状打破のためのキーワードとなっている。Precision Medicineを端的に表現すると「患者さんAのがん細胞にはBという遺伝子変異があるからCという治療薬を使おう」といった、遺伝子情報に基づいた治療法の対応表を作ろうということである。この対応表を作

成するためには、先に膨大なデータが必要となるが、まずアメリカ国立衛生研究所(National Institutes of Health, NIH)が着手したのが、60種類のがん細胞株の網羅的解析である。

1980年代後半から始まったこのプロジェクトはNCI-60と呼ばれ、60細胞株のすべての遺伝子についてmRNA発現量、変異、プロモーターのメチル化、コピー数、タンパク質発現量(検出可能なもののみ)、またmicroRNA発現量、さらには10

万種類をこえる化合物に対する薬剤感受性がデータベース化された。続いてBroad Institute-MITがCCLE (Broad Institute Cancer Cell Line Encyclopedia)を、Sanger Institute-MGHがGDSC (Genomics of Drug Sensitivity in Cancer)という、約1000種類のがん細胞株についての網羅的解析のデータベースを立ち上げた。最近では、よりヒトに近い状態の情報を得るために、患者由来のxenograftや患者由来のオルガノイドをもちいた、薬剤感受性データが蓄積されつつある。なお、NCI-60、CCLE、GDSCデータベースはYves Pommier, NIHらのグループが開発したCellMinerCDB <https://discover.nci.nih.gov/cellminercdb/> にアクセスすると容易に解析可能である<sup>[1]</sup>。

本レビューで話題とするSLFN11は、NCI-60およびCCLEのデータ解析により、DNA障害型の抗がん剤(シスプラチン、カンプトテシンなど)の感受性とmRNAの発現量が高々とも高く相関する遺伝子として2012年に報告された(図1左と中)<sup>[2,3]</sup>。SLFN11はそれまで機能解析がほとんどされず、抗がん剤との関わりは全く報告されていなかった無名の遺伝子であった。その中で、SLFN11の発現が高いがん細胞はDNA障害型抗がん剤に効きやすく、SLFN11の発現が低いがん細胞は耐性となること、大規模がんデータベースとバイオインフォマティクスの力をもって、明らかになったのである。筆者はCRISPR/Cas9が利用可能となった2013年にすぐさまSLFN11ノックアウト細胞を作成し、親株と比べて薬剤感受性試験を行い、SLFN11の薬剤感受性への寄与度に驚愕した。それ以来SLFN11をライフワーク遺伝子として、鋭意研究に勤しんでいる。本レビューではこの間き慣れない、しかしながら、抗がん剤治療のライジングスターとなり得るSLFN11について解説する。

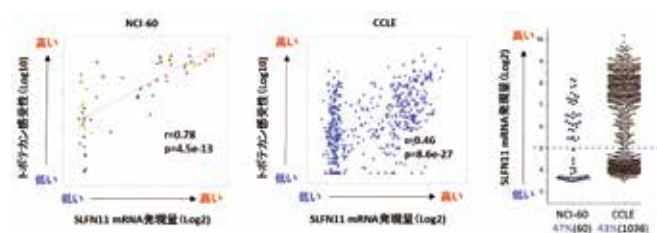


図1 大規模がんデータベースNCI-60(左)とCCLE (cancer cell line encyclopedia)(中央)における、トポテカン感受性(縦軸)とSLFN11発現量(横軸)との有意な相関。各ドットは各細胞株のデータを示す。(右)SLFN11の2極性発現パターン。青字はSLFN11低発現量の割合(%)。カッコ内は各データベースに含まれる細胞株数。

## SLFN11が抗がん剤感受性を増強させるメカニズム

SLFNファミリーは哺乳類のみで見つかり、おおむね、細胞の分化や増殖の抑制にかかわる。ヒトにはSLFN5、11、12、13、14が存在し、SLFN12以外はヘリカーゼ活性ドメイ

ンもち核に存在する。なお、マウスにはSlfn1、1L、2、3、4、5、6、9、10、14があるが、SLFN11のオーソログが存在するかは不明である<sup>[4]</sup>。

SLFN11が感受性を増強させる薬剤(プラチナ製剤、トポイソメラーゼ阻害剤、複製阻害剤)の共通点は、S期の複製に異常を起こして(複製ストレス)、抗がん作用を発揮することである<sup>[5]</sup>。SLFN11がDNA障害型の抗がん剤の感受性を増強させる機構について、MuらはSLFN11が一重鎖DNA結合タンパク質であるRPAに結合することを報告した<sup>[6]</sup>。この著者らはSLFN11がS期に起こった二重鎖切断部位において、RPAを引き剥がすことで相同組み換えを抑制することが、薬剤感受性を増強するメカニズムであると結論づけた。一方、筆者らは最近、SLFN11が複製ストレスにさらされる細胞の複製フォークに結合し、永続的に複製を停止させることで、細胞死を導くことを突き止めた(図2)<sup>[7]</sup>。以下に詳しく解説する。

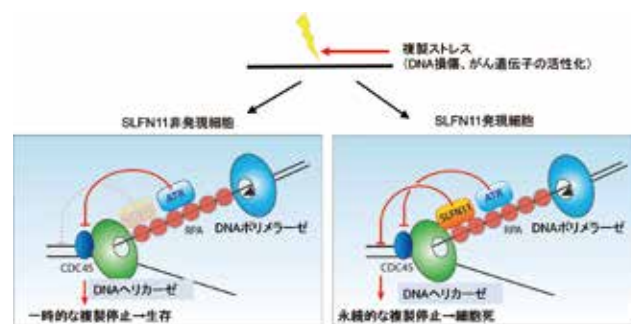


図2 SLFN11の作用メカニズム。DNA損傷などの複製ストレスにより、DNAポリメラーゼとDNAヘリカーゼの間にギャップが生じる。ギャップはRPA(replication protein A)により覆われ、ATRとSLFN11がリクルートされる。SLFN11非発現細胞では、ATRがDNAヘリカーゼ複合体(CDC45含む)を抑制し、一時的に複製を停止させ、生存に有利に働く(左)。SLFN11発現細胞でもATRは同様に働くが、それと平行してSLFN11は永続的に複製を停止させるため、複製ストレスを抱える細胞は死ぬ(右)。

## 1. SLFN11はATRとは独立してDNAが損傷を受けたときに複製を阻害する

これまで、S期に起こるDNAの損傷に対する細胞の応答としては、唯一、ATRに依存性のS期チェックポイントが知られていた。これは、DNAの損傷に対しATRのもつキナーゼの活性化により下流のCHK1が活性化し、その下流のCDK1が不活性化されることにより複製フォークの進行の速度を低下させ、新たな複製フォークによる複製の開始を阻害するものである。

この機能は、DNAが損傷を受けたときに複製フォークがそこに衝突する際の新たな損傷をふせぐため、および、修復のための時間をかせぐために有用で、細胞の生存に有利にはたらく。

実際、S期にDNA損傷を起こすカプトテシンの投与を継続して24時間後、SLFN11ノックアウト細胞においてはATRが引き続き活性化しているにもかかわらず複製は再開し細胞は生存した。一方、SLFN11を高発現する対照細胞では、複製が

永続的に停止しており、S期の細胞は死にはじめていた。つまりATRによる複製の停止は一時的で細胞の生存をおびやかさない一方、SLFN11はATRとは独立して永続的に複製を阻害し細胞死を誘導していた。

## 2. SLFN11は複製フォークに結合する

SLFN11がどこで複製を阻害するのか蛍光免疫染色法により検討したところ、カプトテシンの投与の4時間後、SLFN11は新規にDNAが合成されているクロマチン領域に集積していた。つまり、SLFN11は複製フォークに結合することがわかった。免疫沈降-質量分析法による解析により、SLFN11はカプトテシンの存在下において、DNAヘリカーゼ複合体MCM2-7のサブユニットのひとつMCM3と結合することもわかった。カプトテシンの投与により、DNAポリメラーゼとDNAヘリカーゼとのあいだにすき間が生じて1本鎖DNAが露出し、そこにRPA複合体がポリマー構造を形成することが知られている。これらを総合すると、DNAの損傷にตอบสนองしSLFN11がRPAおよびMCM3を介して複製フォークに結合することが示唆された。

## 3. SLFN11は複製の開始は阻害しないが、のちの複製フォークの進行を阻害する

ATRに依存性のS期チェックポイントは、進行中の複製フォークを停止させるとともに新たな複製の開始を阻害する。DNAファイバーアッセイによりSLFN11は進行中の複製フォークの停止には関与しないことがわかった。それでは、SLFN11は複製の開始それ自体を阻害するのか、あるいは、複製の開始後の複製フォークの進行を阻害するのか？複製の開始にはCDK1に依存的に起こる複製フォークへのCDC45のリクルートが必須である。免疫蛍光染色法により、SLFN11は複製フォークへのCDC45のリクルートを阻害しないことがわかった。SLFN11は複製の開始の直後に起こる複製フォークへのPCNAのリクルートも阻害しなかった。さらに、複製開始点および複製開始の頻度をゲノムワイドかつ網羅的に解析する手法である新生鎖DNA-seq法を用いて、SLFN11が複製の開始におよぼす影響についても検討した。これらの結果、SLFN11は複製の開始には影響しないことが明らかになった。

## 4. CHK1阻害剤により強制的に複製の開始を起してもSLFN11の複製フォークへの結合および複製フォークの進行停止は起こる

ここまでは、カプトテシンを用いてSLFN11の機能を解析したが、カプトテシンによるDNAの直接の損傷はSLFN11が機能するために必要なのだろうか？DNAの直接の損傷なくSLFN11を複製フォークに集積させる方法としてCHK1阻害剤を用いた。CHK1阻害剤はCDK1を活性化させ、強制的に複製の開始を起こす。CHK1阻害剤の投与の4時間後、RPA複合

体およびSLFN11のクロマチンへの集積が認められ、SLFN11は複製フォーク結合タンパク質であるCDC45と共局在した。さらに、SLFN11ノックアウト細胞に比べ、野生型の細胞においてはRPA複合体の集積が少なく、複製は抑制されていた。

このことから、直接的なDNAの損傷がなくとも、RPA複合体が複製フォークに集積する状況においては、SLFN11が複製フォークに結合しその進行を阻害することがわかった。

なお、長期にわたるS期の停止により複製フォークが崩壊し細胞死が誘導されることは以前より報告があるので、SLFN11によるS期の停止が薬剤感受性に影響すると考えてよいと思うが、S期の停止から細胞死にいたる過程についてはさらに解析する必要があると考えている。

## Unmet need であるDNA障害型抗がん剤の効果予測をSLFN11が打破するか？！

近年、分子標的薬、抗体医薬、キナーゼ阻害剤、免疫チェックポイント阻害剤などの高価な新規抗がん剤の使用頻度が増えている。一方、DNA障害型抗がん剤であるプラチナ製剤（シスプラチン、カルボプラチン）、トポイソメラーゼ阻害剤（イリノテカン、トポテカン、エトポシド）、DNA複製阻害剤（シタラビン、ジェムシタピン）は、比較的安価で、今も多くのがん治療の第一線で使用されている。DNA障害型抗がん剤は、骨髄抑制や腸管障害など重篤な副作用をしばしば伴うため、投与前に効果が低いと予測できれば、副作用の危険性を回避しつつ、別の治療薬が選択できる。逆に、DNA障害型抗がん剤の治療効果が高いと予測できれば、高価な分子標的薬や免疫チェックポイント剤を避けて、比較的安価なDNA障害型抗がん剤を第一に選択できる。このように、患者の利益と医療コストの面から、DNA障害型抗がん剤の効果予測のバイオマーカーが必要である。これら薬剤の作用機序は深く研究されており、DNA修復に関わる遺伝子が薬剤感受性に大きく寄与することも解っている。しかしながら、未だに実臨床で使用可能な薬剤効果予測バイオマーカーは存在しない。理由の1つとしては、感受性に大きく寄与する遺伝子があってもその変異率が低いので（数パーセント以下）、検査費用に対して費用対効果が低いことが挙げられる。数十パーセントの遺伝子変異率や、遺伝子発現のオンオフ率で、かつ薬剤感受性に大きく関わる遺伝子が見つかってこなかったのである。ここに、SLFN11遺伝子の発現レベルを、NCI-60、CCLE、GDSCでみると、きわめて低いか高いかのいずれかであり、そのオン-オフの頻度と二極性のパターンから汎用性の高いバイオマーカーとなることが期待できる（図1右）。なお、SLFN11は、2018年から卵巣がんの治療薬として日本において認可されたPARP阻害剤の感受性にも強くかかわる<sup>[9]</sup>。PARP阻害剤はもともとDNA修復阻害剤として開発されたが、のちの研究により、PARPとDNAとの複合体を形成する作用によりDNA障害剤として機能することがわかった<sup>[9, 10]</sup>。これらのことから、SLFN11は

広範なDNA障害型の抗がん剤の感受性決定因子であることがわかる。

SLFN11がバイオマーカーとして注目されて以降、がん細胞株、患者由来xenograft、患者データを用いての、SLFN11とDNA障害型の薬剤感受性の相関を示す論文が次々と報告されている。SLFN11の有用性を示す後向き臨床研究は多施設から出はじめており、免疫染色でのスコア化を明記した臨床試験結果は2018年6月にJournal of Clinical Oncologyに報告された<sup>[11]</sup>。この研究は2018年のAACR最終日のハイライトで取り上げられ、そのJCO論文はNature Review Clinical Oncologyに取り上げられている<sup>[12]</sup>。筆者もSLFN11のバイオマーカーとしての有用性の検討を、国内医療施設と共同研究中であり、SLFN11が実臨床で効果予測バイオマーカーとして利用できるかどうか、近年中に結論付けたい。

参照：ライフサイエンス新着論文レビュー

【<http://first.lifesciencedb.jp/archives/17989>  
CellMinerCDB】

【<https://discover.nci.nih.gov/cellminerfdb/>】

個人のHP【<http://slfn11.iab.keio.ac.jp/>】

## ● 引用文献

1. Rajapakse, V.N., et al., *CellMinerCDB for Integrative Cross-Database Genomics and Pharmacogenomics Analyses of Cancer Cell Lines*. iScience, 2018. 10: p. 247-264.
2. Barretina, J., et al., *The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity*. Nature, 2012. 483(7391): p. 603-7.
3. Zoppoli, G., et al., *Putative DNA/RNA helicase Schlafen-11 (SLFN11) sensitizes cancer cells to DNA-damaging agents*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. 109(37): p. 15030-5.

4. Mavrommatis, E., E.N. Fish, and L.C. Platanias, *The schlafen family of proteins and their regulation by interferons*. J Interferon Cytokine Res, 2013. 33(4): p. 206-10.
5. Murai, J., *Targeting DNA repair and replication stress in the treatment of ovarian cancer*. Int J Clin Oncol, 2017. 22(4): p. 619-628.
6. Mu, Y., et al., *SLFN11 inhibits checkpoint maintenance and homologous recombination repair*. EMBO Rep, 2016. 17(1): p. 94-109.
7. Murai, J., et al., *SLFN11 Blocks Stressed Replication Forks Independently of ATR*. Mol Cell, 2018. 69(3): p. 371-384 e6.
8. Murai, J., et al., *Resistance to PARP inhibitors by SLFN11 inactivation can be overcome by ATR inhibition*. Oncotarget, 2016. 7(47): p. 76534-76550.
9. Murai, J., et al., *Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors*. Cancer Res, 2012. 72(21): p. 5588-99.
10. Murai, J. and Y. Pommier, *PARP Trapping Beyond Homologous Recombination and Platinum Sensitivity in Cancers*. Annual Review of Cancer Biology, Vol 3, 2019. 3: p. 131-150.
11. Pietanza, M.C., et al., *Randomized, Double-Blind, Phase II Study of Temozolomide in Combination With Either Veliparib or Placebo in Patients With Relapsed-Sensitive or Refractory Small-Cell Lung Cancer*. J Clin Oncol, 2018. 36(23): p. 2386-2394.
12. Sidaway, P., *SLFN11: a new synthetic lethal target?* Nat Rev Clin Oncol, 2018. 15(9): p. 533.



村井 純子

慶應義塾大学  
先端生命科学研究所  
特任准教授

## ミニレビュー

# Rad52、XPGを介したR-loop構造の処理機構が転写共役型相同組換え修復を誘導しゲノムの正確な維持に寄与する

## はじめに

我々のゲノムは日々たくさんの損傷を受けているが、そのほとんどがDNA修復機構によって修復され、恒常性が維持されている。種々のDNA損傷の中でも、DNA二重鎖切断は最も重篤であり、その修復のエラーによって、がんなどで見られるようなゲノム異常を誘導しうる。ヒト細胞において

DNA二重鎖切断は主に2つのpathway、すなわち非同源末端結合 (non-homologous end-joining) または相同組換え修復 (homologous recombination repair) によって修復されることが知られている。相同組換え修復は姉妹染色体を鋳型として修復を行うため、相対的に正確な修復機構であると考えられているが、姉妹染色体が存在するS/G2期にしか行うことができ

ない。酵母などの単細胞生物においてはほとんど全てのDNA二重鎖切断が相同組換え修復で修復される一方で、G2期のヒト細胞においてはゲノム中にランダムに発生したDNA二重鎖切断のうち約30%が相同組換え修復、70%が非相同末端結合によって修復されることが知られている<sup>(1)</sup>。これらのことは、進化の過程で相同組換え修復を行うべき領域とそうでない領域を選択するための機構が獲得されたことを示唆する。これまでの研究で、この選択機構について様々なモデルが提唱されており、転写活性化領域においては相同組換え修復が誘導されやすいことが知られていた<sup>(2)</sup>。しかしながら、細胞が転写領域にあるDNA二重鎖切断をどのようにして認識し、相同組換え修復を誘導しているのかについては、詳しく分かっていなかった。

転写活性化領域においては、RNAが豊富に存在するため、それらがDNA修復をはじめとする様々な細胞機能に影響を与えている可能性がある。DNAとRNAはハイブリッド二重鎖をつくることが知られており、このDNA-RNAハイブリッド二重鎖と一重鎖DNAによって構成される構造は、R-loopと呼ばれる(図1)。このR-loop構造がゲノム安定性に与える影響について様々な研究がなされており、近年、酵母においてR-loop構造が相同組換え修復を誘導することが示された<sup>(3)</sup>。従って、我々はヒト細胞においてもR-loop構造が相同組換え修復を誘導するか、またその詳細なメカニズムの解明を目指して研究を開始した。

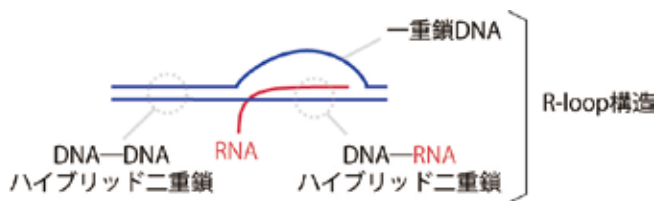


図1 R-loop構造の模式図

本来はDNA-DNAハイブリッドによる二重鎖で我々の遺伝情報が保持されているが、ある特別な環境下では、DNA-RNAハイブリッドによる二重鎖と、一重鎖DNAによって構成されるR-loop構造が形成され、その構造の存在がさまざまな細胞機能に影響することが近年明らかになりつつある。

## 1. ヒト細胞の相同組換え修復の一部は進行中の転写およびRad52に依存する

相同組換え修復はG0/G1期で起こらないこと、さらにDNA複製が与える影響を排除するために、G2期のヒト細胞に放射線を照射し、DNA二重鎖切断を誘導した。相同組換え修復は、ヌクレアーゼによって二重鎖切断末端から削り込みが起こり、一重鎖DNAが露出することで開始する<sup>(4)</sup>。一重鎖DNAに結合するRPA複合体やRad51の集積を指標に、転写を阻害する薬剤で処理した細胞での相同組換え修復の頻度を計測したところ、転写阻害剤処理細胞では相同組換え修復の頻度が20-30%減少することを見出した。これらのことは、相同組換え修復の

一部は進行中の転写に依存していることを示唆した。我々はこの修復経路を転写共役型相同組換え修復(TA-HRR)と呼ぶことにした。

酵母においてRad52がRNAとDNA二重鎖切断修復を関連付ける因子であるという報告があったことから<sup>(5)</sup>、ヒト細胞においてもRad52が転写共役型相同組換え修復に関与しているのではないかという仮説を立てた。Rad52を欠損( $\Delta$ Rad52)した細胞をCRISPR-Cas9法を用いて作成して解析したところ、面白いことに $\Delta$ Rad52細胞では転写共役型相同組換え修復が起こらないことが判明した。従って、ヒト細胞においてRad52が転写共役型相同組換え修復に関与することが示された。

## 2. Rad52はBRCA1を介してRIF1-53BP1複合体を抑制することで、転写共役型相同組換え修復を開始する

最近、RIF1-53BP1複合体による非相同末端結合の促進が、相同組換え修復因子BRCA1によって抑制されることで、相同組換え修復が開始することが明らかになった<sup>(6)</sup>。そこで、転写共役型相同組換え修復がBRCA1によるRIF1-53BP1の抑制に依存しているかを調べた。まず、 $\Delta$ Rad52によって抑制された転写共役型相同組換え修復は、RIF1あるいは53BP1のノックダウンによって回復するが、転写阻害剤によって抑制された転写共役型相同組換え修復は、回復されないことが判明した。これらのことから、転写共役型相同組換え修復の開始には、進行中の転写の存在は必須であるが、Rad52はRIF1-53BP1複合体を抑制するために必要であることが示唆された。さらに、BRCA1をノックダウンした細胞で転写共役型相同組換え修復が起こらなかったことから、Rad52はBRCA1の機能を促進している可能性が示唆された。実際、BRCA1の転写共役型相同組換え修復部位への集積は、Rad52に依存することが判明した。従って、Rad52の転写共役型相同組換え修復における機能の一つは、BRCA1を介したRIF1-53BP1複合体の抑制であることが示された。

## 3. DNA二重鎖切断の発生に伴い形成、解消されるR-loop構造が相同組換え修復の開始に必要である

DNA二重鎖切断を特異的に発生させるレーザー照射システム<sup>(7)</sup>および、R-loop構造のインジケーター<sup>(8)</sup>を組み合わせることで、DNA二重鎖切断発生後のR-loop構造の形成、解消される様子をリアルタイムで可視化することに成功した。二重鎖切断発生後のR-loop構造の形成は、約1分でピークに達し、5分以内には大半が解消されていくことが判明した。次に、R-loop構造の形成が相同組換え修復の開始に必要なかどうかを調べた。R-loop構造を特異的に分解するRNaseH1を過剰発現させることで、細胞内で形成されるR-loop構造を阻害するこ

とができる。この方法を用いて、R-loop構造が相同組換え修復の頻度を与える影響を計測したところ、 $\Delta$  Rad52細胞と同程度の減少が認められ、R-loop構造とRad52は同じ経路で相同組換え修復に関与することが示された。

R-loop構造の生成、解消について、様々なDNA修復因子が与える影響を調べたところ、興味深いことに、 $\Delta$  Rad52細胞ではR-loop構造の生成に変化はない一方で、R-loop構造の解消が遅滞することが分かった。上の結果と合わせると、相同組換え修復の開始には、R-loop構造の形成、解消のどちらも必要であるとともに、Rad52はR-loop構造の解消を促進することで相同組換え修復を開始するということが示唆された。

#### 4. 塩基除去修復因子XPGがR-loop構造を切断し解消することで相同組換え修復を開始する

さらに二重鎖切断発生後のR-loop構造の解消因子について調べていくと、塩基除去修復因子で機能する二つのヌクレアーゼXPF、XPGのうち、XPGのみが二重鎖切断発生後のR-loop構造の解消に寄与していることが判明した。さらにRad52とXPGの関係性を調べたところ、XPGの二重鎖切断部位の集積はRad52に依存することが分かった。従って、Rad52の転写共役型相同組換え修復におけるもう一つの役割として、XPGを介したR-loop構造の解消を促進することであることが示された。

#### 5. 転写共役型相同組換え修復は、不正な非同末端結合によって起こるゲノム異常の発生を抑制する

転写共役型相同組換え修復が不全になった場合に細胞にどのような影響があるかを解析するため、G2期細胞の不正な修復で起こりうるゲノム異常のうち、姉妹染色体間結合の頻度について計測した。姉妹染色体間結合の頻度は、転写阻害剤処理細胞や、 $\Delta$  Rad52細胞において顕著に増加する一方で、非同末端結合因子であるLIG4を欠損した細胞では、そのような増加は見られなかった。従って、転写共役型相同組換え修復が不全になった場合には、不正な非同末端結合によって修復がなされることで、ゲノム異常が顕著に増大することが判明した。また、転写共役型相同組換え修復を含むすべての相同組換え修復の開始に必須のタンパク質であるCtIPをノックダウンした場合にも、転写阻害剤処理細胞や $\Delta$  Rad52細胞においてみられる頻度と同等の異常しか観察されなかった。このことは、すべての相同組換え修復の中でも、特に転写共役型相同組換え修復が、ゲノム異常の抑制に強く寄与していることを示唆した。

#### おわりに

我々の広大なゲノムの中でも、転写されている部位は特に重要性が高い部分であると考えられ、そこに生じたゲノム損傷は

正確に修復する必要性が非常に高いと考えられる。今回明らかとなった転写共役型相同組換え修復のメカニズムは、まさにその一端を担う機構であると考えられ、これらの破綻によって重要なゲノム領域に生じた異常がその後、がんなどの疾患につながっていくことは容易に想像できる(図2)。本研究では相同組換え修復に注目して研究を進めたが、相同組換え修復は姉妹染色体が存在するS/G2期にしか起こらない。G0/G1期において転写活性化部位がどのように保護されているかについては未だ不明であり、さらなる解明が必要である。また、転写共役型のDNA修復として古くから知られる塩基除去修復との類似性、特にXPGなどの因子が共通して関与する点も興味深いと考えられる。

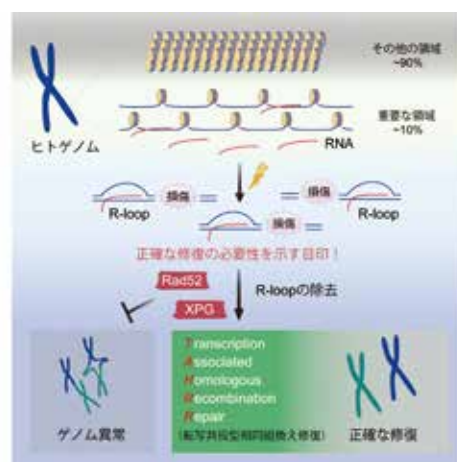


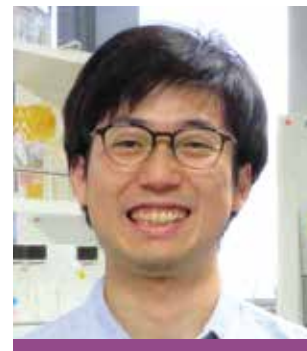
図2 転写共役型相同組換え修復のモデル図

我々のゲノムの中で頻繁に読み出されてRNAが合成される領域は全体の10%程度だが、そのような領域にDNA二重鎖切断が生じると、R-loop構造が形成される。Rad52がR-loop構造を目印として認識し、XPGがR-loopを除去することによって、正確なDNA修復経路である相同組換え修復が活性化される。一方、これら一連のメカニズムがうまく機能しない場合には、不正確な修復によるゲノム異常が増加する。

#### ● 引用文献

1. Shibata A, Conrad S, Birraux J, Geuting V, Barton O, Ismail A, Kakarougkas A, Meek K, Taucher-Scholz G, Lobrich M, Jeggo PA. 2011. Factors determining DNA double-strand break repair pathway choice in G2 phase. *EMBO J* 30:1079-92.
2. Aymard F, Bugler B, Schmidt CK, Guillou E, Caron P, Briois S, Iacovoni JS, Daburon V, Miller KM, Jackson SP, Legube G. 2014. Transcriptionally active chromatin recruits homologous recombination at DNA double-strand breaks. *Nat Struct Mol Biol* 21:366-74.
3. Ohle C, Tesoro R, Schermann G, Dobrev N, Sinning I, Fischer T. 2016. Transient RNA-DNA Hybrids Are Required for Efficient Double-Strand Break Repair. *Cell* 167:1001-1013 e7.

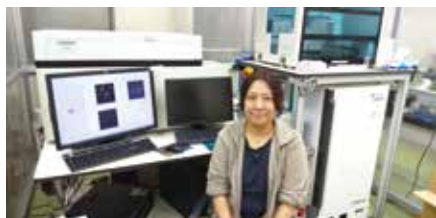
4. Shibata A, Moiani D, Arvai AS, Perry J, Harding SM, Genoio MM, Maity R, van Rossum-Fikkert S, Kertokalio A, Romoli F, Ismail A, Ismalaj E, Petricci E, Neale MJ, Bristow RG, Masson JY, Wyman C, Jeggo PA, Tainer JA. 2014. DNA double-strand break repair pathway choice is directed by distinct MRE11 nuclease activities. *Mol Cell* 53:7-18.
5. Keskin H, Shen Y, Huang F, Patel M, Yang T, Ashley K, Mazin AV, Storici F. 2014. Transcript-RNA-templated DNA recombination and repair. *Nature* 515:436-9.
6. Isono M, Niimi A, Oike T, Hagiwara Y, Sato H, Sekine R, Yoshida Y, Isobe SY, Obuse C, Nishi R, Petricci E, Nakada S, Nakano T, Shibata A. 2017. BRCA1 Directs the Repair Pathway to Homologous Recombination by Promoting 53BP1 Dephosphorylation. *Cell Rep* 18:520-532.
7. Reynolds P, Botchway SW, Parker AW, O'Neill P. 2013. Spatiotemporal dynamics of DNA repair proteins following laser microbeam induced DNA damage – When is a DSB not a DSB? *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 756:14-20.
8. Bhatia V, Barroso SI, Garcia-Rubio ML, Tumini E, Herrera-Moyano E, Aguilera A. 2014. BRCA2 prevents R-loop accumulation and associates with TREX-2 mRNA export factor PCID2. *Nature* 511:362-365.



**安原 崇哲**

東京大学大学院医学系研究科  
疾患生命工学センター  
放射線分子医学部門  
助教

平成31年度 新人紹介



**安倍 昌子さん**  
研究員

2016年8月より、派遣でIN Cell Analyzerのオペレーターとして皆様のお手伝いをさせて頂いておりましたが、この4月より直雇用に切り替えて頂けることになりました。また、3月末に退職された佐藤さんの後を引き継ぎ、洗浄室のほうも担当させていただきます。まだまだ不慣れな点が多く、ご迷惑をお掛けすることもあるかもしれませんが、精一杯皆さまのサポートに努めさせていただきますので、どうぞよろしくお願い致します。



**飯田 智子さん**  
事務室  
事務補佐員

本年2月より放生研事務室でお世話になっております飯田智子と申します。

京都大学の経済学部→宇治キャンパスの補助金掛を経てこちらの事務室に来ました。まだまだ何もわからず、皆様にご迷惑をおかけいたしておりますが、早く慣れるよう努めようと思います。よろしくお願い致します。





酒井 理さん

晩発効果研究部門  
技術補佐員

本年度4月より晩発効果研究部門で技術補佐員として就業しました。この春まで本学の理学研究科において動物行動学に従事し、クローン繁殖（正確には単為生殖）をおこなうヤマモリの後天的な多様性形成メカニズムを研究してきました。動物行動学・生態学・進化学・爬虫両棲類学が専門となります。これまではフィールド調査や行動観察といった泥臭いアプローチで研究を構築してきましたが、放生研では分子生物学的な実験のサポートを主に行います。分野も大きく変わり、未熟で至らぬ点多いかと思いますが、ご指導ご鞭撻賜りますよう宜しくお願い致します。



白井 友香理さん

ゲノム動態研究部門  
大学院生（修士）

今年の4月から、立命館大学より生命科学研究科修士課程に進学しました。白井友香理です。出身は大阪府です。犬と音楽とオムライスがとても好きです。学部時代は筋ジストロフィーに関連するタンパク質の研究していました。新たな環境で分からないことが多く、ご迷惑をおかけしますが、精一杯頑張りたいと思います。ご指導よろしくお願いたします。



中原 舞さん

晩発効果研究部門  
大学院生（修士）

4月から京都産業大学から生命科学研究科修士課程に進学しました。中原舞と申します。出身は京都で、ずっと京都に住んでいます。趣味は音楽を聴くことと旅行で、全国を旅行してみたいと思っています。好きな食べ物はスイーツ全般です。

学部では、大腸菌・枯草菌のタンパク質の動態の研究をしていました。新しいことばかりで慣れないことも多く、ご迷惑をおかけしますが何卒よろしくお願いたします。



楠本 祐之さん

晩発効果研究部門  
大学院生（修士）

和歌山工業高等専門学校から人間・環境学研究科修士課程に進学しました。楠本祐之です。私は、高専出身という稀な経歴を持っており、高専時代は世界で最も高い水圧下で生育する細菌について研究していました。高等生物の研究を行うのは人生初めてで、ゼロからのスタートになりますが、精一杯頑張りたいと思います。皆様どうぞよろしくお願いたします。



**平野 文香さん**

晩発効果研究部門  
大学院生（修士）

今年度より修士課程に進学しました平野文香と申します。学部ではメスラットを用いてエストロゲン受容体発現の研究をしていました。ミクロな研究をするのは初めてなので、わからないことばかりでご迷惑をお掛けしますが精一杯頑張ります。ご指導の程、宜しくお願い致します。

趣味は宝塚観劇です。厳しさから生まれるキラキラした華やかな世界観に魅了され月に一回は大劇場へ足を運び、いつもハッピーパワーをチャージしています。



**長野 香穂さん**

放射線システム生物学研究部門  
大学院生（修士）

生命科学研究所修士課程1年の長野香穂と申します。大学時代は、核酸の四重らせん構造を標的とした細胞のがん化に関与する研究を行っていました。酵母、ストレスに関与する研究に大変興味があり、松本先生の下でお世話になることになりました。出身地は大阪で、毎日大阪から通学しています。素晴らしい環境の中で研究生活を送れることを大変嬉しく思っております。私の研究について自信を持って語ることが出来るように、精一杯頑張ります。皆様、ご指導ご鞭撻の程、よろしくお願い申し上げます。



**佐藤 裕樹さん**

放射線ストレス応答研究部門  
大学院生（修士）

統合生命科学専攻石川研究室の修士一回生の佐藤と申します。現在は細胞ストレスを定量的に扱い、ストレスの変化率と生存率の関係に着目して研究をしています。これから2年間よろしく願いいたします。



**杉野 海斗さん**

放射線ストレス応答研究部門  
大学院生（修士）

4月から生命科学研究所 統合生命科学専攻 修士課程に進学致しました杉野海斗と申します。学部時代は物理学を専攻し、特に生物物理学に関する研究をしていました。大学院から本格的に生物学を学ぶことになり、期待感であふれています。何をとっても初めてのことばかりで、特に実験操作には不安はありますが、簡単で小さなことに対する「なぜ」を大切に研究活動に勤しんでいきます。研究室や放生研の方々から1つでも多くのことを学び、成長の期間にできたらと思います。至らぬ点が多いと多いと思いますが、どうぞ宜しくお願い致します。



**杉山 和哉さん**

放射線ストレス応答研究部門  
大学院生（修士）

今年度4月より石川研でお世話になります杉山和哉と申します。広島大学理学部から進学しました。学部の卒業研究ではDNA-タンパク質クロスリンクの修復について研究を行いました。出身は愛知県名古屋市です。趣味は野球観戦・クラシック音楽（大学ではオーケストラに所属していました）です。まだまだ未熟で皆様にもご迷惑をおかけしますが、何卒よろしくお祈いします。



**千葉 正智さん**

放射線ストレス応答研究部門  
大学院生（修士）

今年度4月から北海道大学から生命科学科修士課程に進学しました、千葉正智と申します。出身は大阪府であり、再び関西の地で過ごせることを楽しみにしております。学部ではスギ花粉症のアレルゲン同定に努めておりましたが、エイジングやガンに興味があったため、異動させて頂きました。未熟で至らぬ点が多いと思いますが、ご指導・ご鞭撻の程、何卒宜しくお祈い致します。



**Marielle A. Roles さん**

晩発効果研究部門  
特別研究学生

I am Marielle Roels, a French student from Imperial College London in a Human Molecular Genetics Master degree and I am currently doing my Master project in Professor Takata lab until September 2019. I have previously studied Biotechnology for 4 years in Ireland for my Bachelor. The topics I prefer reading about and researching in Genetics are DNA repair and damages, aging and longevity, and some epigenetics. Outside of Genetics, I love astrophysics, martial arts, animal photography, and cats and birds of any sorts! I also like playing to some video games during my free time. I do not speak Japanese well but I know simple kanji, hiragana, katakana and some simple vocabulary. I hope to improve my Japanese while in Kyoto so do not hesitate to try to speak to me in Japanese, even if I may not understand everything.



**Hendrik Boog さん**

染色体継承機能研究部門  
短期交流学生

I'm Hendrik Boog, studying Molecular Biotechnology in my master's at the University of Heidelberg, Germany. I came to Japan in March 2019 and will do an internship at Carlton Lab until end of August 2019. My stay in Japan is interesting, I'm learning a plethora of new things, and I make memories that hopefully last a lifetime. Currently I'm also learning Japanese, mostly in my free time.

In Germany I was employed as a research assistant at the Max-Planck Institute for Medical Research in Heidelberg. I was in the iGem competition in 2015, as member of the Team Heidelberg, which got the third-place undergrad the same year. iGem is an international research competition in synthetic biology. I did internships at different German universities giving me insights into different topics, like cell biology and DNA origami.

I'm grateful, that you read my introduction and looking forward to further work with you.

## 日本放射線影響学会第62回大会のお知らせ

11月14-16日の影響学会第62回大会の京大吉田キャンパスにおける開催につきまして、かねてからご案内しているところですが、今回のニュースレター発行に際し、いくつかみなさまにお知らせいたしたいがございます。

1. 「参加登録・ホテル予約（7月26日まで）」と「一般演題公募（6月25日まで）」のホームページをオープンいたしました。以下のアドレス、<http://62jrns.rbc.kyoto-u.ac.jp/index.html> にアクセスし、参加登録と抄録の提出をお願いします。なお、会員の抄録提出については、年会費・参加登録費の支払い済みであることが基本ですので、よろしく願いいたします。若手の方々には、優秀演題発表賞（発表時40歳未満、ただし休学・休職年数等を考慮、口頭発表が対象）もでございます。
2. なお、採択されたシンポジウムとワークショップについての抄録受付ページは現在準備中で、このニュースレターがお手元に届く前には、オープンしていることと存じます。
3. 暫定プログラムを、上記ホームページでご覧いただけます。放射線影響学の様々なフィールドからのシンポジウム、ワークショップ、男女共同参画・キャリアパスセミナー、関連集会、会員総会などの情報が含まれています。
4. 大会2日目（11月15日）午後、放射線影響研究所理事長・京大名誉教授の丹羽大貫先生に特別講演をいただけることになりました。放射線影響学と日本のサイエンスの今後を見据えたお話をいただけるものと存じます。
5. 本大会の開始は、14日木曜日午前9時10分、終了は16日土曜日3時15分となります。終了後、引き続き市民公開講座「宇宙に学ぶ」を予定しています（情報は近日公開予定）。

京都へのご旅行のプランニングをよろしく願いいたします。大会ホームページで、旅行社で確保したホテルのご予約がいただけます。また、大会事務局では、15日の情報交換会の会場である「ホテル平安の森」に、大会期間中シングル・ツインのお部屋をある程度確保してあります（<https://www.hmi-ryokan.jp/heianmori/>）。京大の会場まで徒歩圏内にあり、評判のよいホテルです。宿泊ご希望の方は、大会事務局にご連絡ください（10月14日までは予約可能、その後は不可）。

本大会は、基本的にすべてのセッションで抄録と発表資料を英語化すること（国際シンポを除き口演言語は日本語も可）、非会員招待演者の参加登録料無料（情報交換会参加無料）、非会員外国人の参加・発表を認めることなど、学会の将来を展望しての試みをいくつか提案しております。皆さま奮ってのご参加をお願い申し上げます。

大会長  
高田 穰  
大会事務局

日本放射線影響学会第62回大会事務局：  
〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町 京都大学 大学院 生命科学  
科学研究科 附属放射線生物研究センター 内  
TEL：075-753-7551 FAX：075-753-7564 E-MAIL：  
62jrns@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp  
大会ホームページ：<http://62jrns.rbc.kyoto-u.ac.jp>

62回大会 シンポジウム・ワークショップ リスト（関連集会等はのぞいています）

【シンポジウム】

- SY1 Research Frontier of UV-induced DNA Damage Repair
  - SY2 Stem cell biology underlying the late effects of radiation
  - SY3 A new horizon of radiation health risk science education from the experience of nuclear disaster
  - SY4 放生研国際シンポジウム-1 Rethinking Radiation Injury I
  - SY5 Reveal the Radiation Effect by Quantum Life Science!
  - SY6 YRBAJシンポジウム Type of cell death -to understand Radiation induced cell death-
  - SY7 JRRS-JASTRO連携シンポジウム Basic, translational, and clinical research toward radiosensitization
  - SY8 Issues in education and communication on health effect and risks of medical exposure
  - SY9 Integration of multiple, trans-disciplinary approaches for the elucidation of the effects of low dose/low dose rate radiation
  - SY10 放生研国際シンポジウム-2 Rethinking Radiation Injury II
- 【ワークショップ】
- WS1 Latest study for genetic effects of radiation
  - WS2 Risk communication learned from the Fukushima nuclear plant accident
  - WS3 New insights into mechanisms of DNA double strand break repair for comprehensive understanding in radiation biology
  - WS4 Innovative drug discovery for radiation effects mitigation and potentiation
  - WS5 The research mission of the effects of low dose and low dose rate radiation - For a radiobiological paradigm shift-

## 編集後記

令和に入って最初の放生研ニュースをお届けします。第1号が発行された昭和52年から3つの元号を跨ぎ、足掛け43年に亘って継続していることとなります。

表紙の写真は今年度の放生研新人歓迎会の様子です。今号に掲載の自己紹介の通り、今年度は多くの新メンバーを迎えました。平成30年度（2018年度）4月の生命科学科学研究科との組織統合により、大学院生の増加がとりわけ顕著です。イイですね。一般的に言われている「人材の新陳代謝による組織の活性化」に期待大です。令和の時代、放生研は良いスタートを切ることが出来ました。

（原田 浩）



京都大学大学院 生命科学科学研究科附属 放射線生物研究センター

〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

編集委員 原田 浩、小林 稔、和田 佳子

お問い合わせ Tel: (075)753-7551 E-mail: 060jimuhosei@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp

