

RBC 放生研ニュース NEWSLETTER

Contents

放生研近況報告	1
第34回放生研国際シンポジウム開催	
着任のご挨拶	2
ミニレビュー	4
細胞周期可視化技術Fucciの多様な進展	
海外での活躍 1	7
North Carolinaでの独立にあたって	
海外での活躍 2	9
UNIST IBSでの独立にあたって	
平成30年度 新人紹介	11
第42回放射線生物研究連絡会議総会議事録	12
編集後記	12



放生研国際シンポジウムの様子(上)と国外からの招待講演者を招いてのエクスカージョン(下)

放生研近況報告

第34回放生研国際シンポジウム開催

平成30年11月10日～12日、第34回国際シンポジウムを、京都大学吉田キャンパス国際科学イノベーション棟で開催いたしました。中国・深圳大学との取り決めで、日中で交互開催することとなっているInternational Symposium on Radiation Therapeutics and Biologyとの共同開催でした。国内外から16名の招待講演者をお迎えし、盛会裡に終えることが出来ました。詳細につきましては、次号でしっかりレポートさせていただきます。



着任のご挨拶

I am interested in understanding how the DNA is packed and organized inside of the cell nucleus and how this organization impacts in the genetic aberrations that drive cancer.



In every human cell DNA is wrapped around proteins called histones to form chromatin. This long complex of DNA and proteins is packed and organized inside of the cell nucleus in small loops. The position and organization of the chromatin within the nucleus is highly regulated and it is important for the correct expression of genes and cell replication and division. The units of organization are chromatin loops, they bring together distant regions in the DNA allowing the interaction between regulatory sequences within the loop. Chromatin loops are formed when ring-shaped protein complexes called cohesin translocate along the chromatin until they encounter a pair of CTCF (CCCTC-binding factor) molecules bound to DNA that stop cohesin. This generates a chromatin loop and the base of the loop, referred as loop anchor, is defined by the binding of CTCF and cohesin. Chromosomes are very long molecules and constant folding and dissociation of loops generates torsions in the chromatin in form of entanglements and knots that could not only block the formation of new loops but also impair cellular processes such as gene expression, replication and cell division. It would be similar than a pair of headphones in a pants pocket, that keep tying themselves in knots (Fig. 1). Topoisomerase 2 (TOP2) solves this problem in the cell. TOP2 relieves torsions in the DNA by breaking both strands of the DNA (DNA double strand break, DSB) and passing other double DNA helix through the break. As part of its normal catalytic cycle, TOP2 religates the ends of the DSBs and dissociates from the DNA without causing any damage, but TOP2

poisons, such as many chemotherapy drugs, inhibit the ligation step, trapping TOP2 in its cleavage state. These lesions lead to genome instability and oncogenic chromosomal translocations responsible of secondary leukemias following chemotherapy. Also, TOP2 has been implicated in infant leukemia and prostate cancer.

I have developed a methodology called END-seq that allows to locate and quantify DSBs in the genome (Canela A. et al. Mol Cell. 2016). I applied it to map the location of TOP2 breaks in the genome and I found that TOP2 acts at loop anchors where chromatin fibers folds, and these locations coincide with the breakpoints of chromosomal translocations of infant

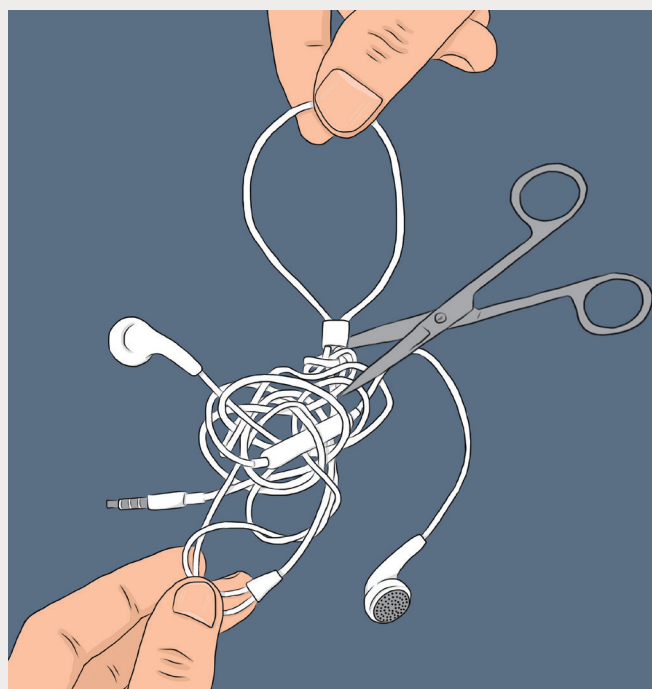


Figure 1. The headphones reflect the ‘knotting’ problem that arises during chromatin loop formation as DNA is channeled through a cohesin complex, represented here as a two-way slider. Loosely entangled DNA outside of the loops are converted to tighter knots as chromatin is continuously fed through the cohesin complex. The mass of jumbled DNA can only be resolved by the action of Topoisomerase 2 that act as enzymatic scissors to disperse the entanglement of intertwined DNA. Credit: Ernesto Llamas, Sketching Science

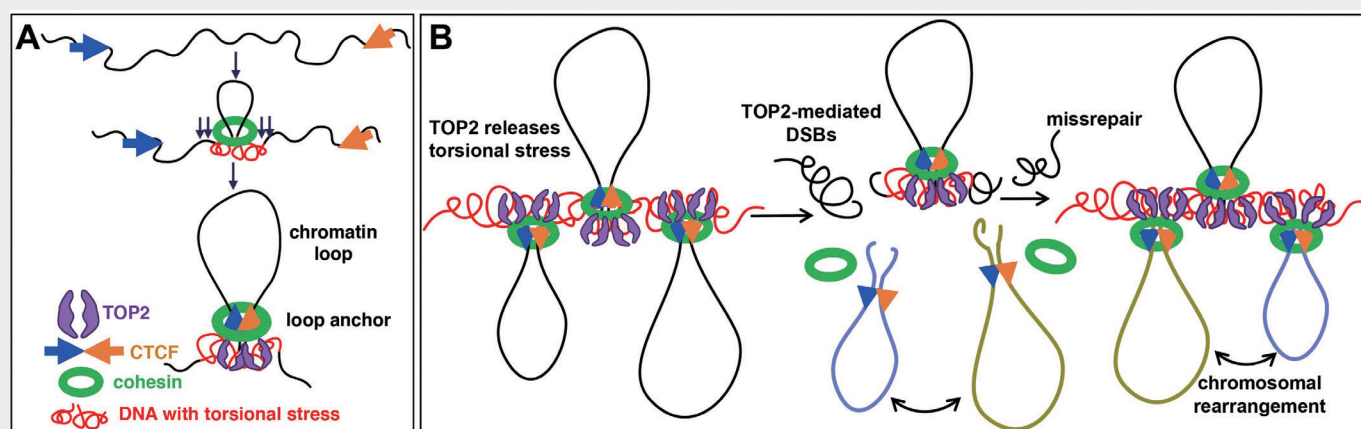


Figure 2. A. TOP2 releases torsional stress at loop anchors. Cohesin is loaded and translocate along the chromatin until it encounters two CTCF bound to the DNA that stop it further progression forming a loop. The torsion generated by cohesin advance accumulates at the loop anchor and it is released by TOP2. **B.** TOP2 activity at loop anchors sometimes lead to permanent breaks that is a source of oncogenic translocations and cancer.

and secondary leukemias and prostate cancer. This suggests that TOP2 relieves torsions during chromatin organization at these locations, making them fragile and vulnerable to chromosomal instability (Fig. 2) (Canela A. et al. *Cell*. 2017).

I am interested in the role of TOP2 in organizing the long fibers of chromatin into loops inside of the nucleus. How TOP2 is recruited and how its activity is regulated? How cells keep their DNA free of entanglements and knots? My hypothesis is that TOP2 works in tight interaction with cohesin and the torsions that are produced during the movement of cohesin and loop formation are rapidly solved by TOP2, acting like a comb. On the other hand, the same breaks that TOP2 produces to relax DNA torsions, sometimes leads to genome instability and cancer. Although TOP2 acts in many locations in the genome, only few sites lead to chromosomal rearrangements that produce cancer. I would like to know why these locations are more fragile and lead to cancer and study the basis of their fragility. My hypothesis is that trapped TOP2 in the DNA acts as a road-block for processes that unwind DNA like transcription and replication and this contributes to the generation of genome instability in

these locations.

Recurrent oncogenic translocations are common cancer drivers in hematological malignancies and solid tumors, these translocations locate in regions prone to break. I propose that folding the chromatin inside of the nucleus is a source of fragility by the action of TOP2. Understanding the role of TOP2 in genome organization and chromosomal translocations can be used to avoid DNA breaks and potentially chromosomal translocations and leukemia, and potentially help to make chemotherapy regimens safer by avoiding the development of secondary cancers.

Andres CANELA

Associate Professor,
Hakubi Center, Kyoto University

ミニレビュー

細胞周期可視化技術Fucciの多樣的進展

阪上一沢野 朝子、楊 正博、宮脇 敦史

Asako Sakaue-Sawano, Masahiro Yo, Atsushi Miyawaki

国立研究開発法人 理化学研究所

脳神経科学研究センター

細胞機能探索技術研究チーム

RIKEN Center for Brain Science

Laboratory for Cell Function Dynamics

はじめに

細胞の増殖と分化とが絡み合うことで、組織、器官、そして個体が形成される。このように階層的に働く“生命動態システム”において、細胞周期進行はどのような時空間パターンで制御されているのか？ この問いに答えるために、我々は細胞周期をリアルタイムに可視化する蛍光プローブFucci (Fluorescent ubiquitination-based cell cycle indicator) の開発を進めている¹⁾⁻⁹⁾。

Fucci技術の基本原理は、細胞周期エンジンを緻密に制御する“Ubiquitin-mediated proteolysis”である。細胞周期をふくめ多くの細胞内諸現象を制御するE3ユビキチンリガーゼは500種類を超えて存在が明らかとなっている¹⁰⁾。これらE3ユビキチンリガーゼに対応するdegronを使い分けることで、様々な細胞諸現象を可視化するためのプローブが開発可能である。

新規に開発したFucci(CA)は、従来のFucci(=Fucci(SA))とは異なる細胞周期位相を検出するFucciプローブであり、細胞周期のG1期、S期、G2期を波長(色)で分離することを初めて可能にした。M期における丸みを帯びた形態を同時に観察すれば、G1期、S期、G2期、M期の全細胞周期を識別できる⁸⁾。その特徴から、例えばUVダメージ応答の細胞周期依存性を検出することや、ES細胞の増殖分化の観察に威力を発揮する。もちろんFucci(CA)と従来のFucci(SA)は補完的な関係にある。両者を組み合わせて使えば、がん、発生、再生などにおける細胞周期の動態に関してより多角的な理解が得られると期待される⁸⁾。

原理

細胞周期情報を得るための従来の手法(³H]-thymidine, BrdU, EdUなどの利用、薬剤同調培養法など)に対し、近年様々な細胞周期可視化技術が登場してきた。細胞周期に従って挙動が変化するタンパク質に蛍光タンパク質を連結し、その蛍光シグナルの質的・量的変化をモニターするものが多い。そもそも機能可視化プローブには、細胞本来の恒常性を阻害しないように働くことが求められる。しかしプローブの導入は、時として

機能タンパク質の過剰状態を作り出す。我々は、細胞周期制御に一切の影響を与えない細胞周期プローブの作製および、そのプローブの細胞導入方法にこだわりながらFucci技術の開発を進行している¹⁾⁻⁹⁾。

Fucciが検出するのは細胞周期進行に伴うE3ユビキチンリガーゼの動態であり、それを細胞周期位相に置き換えて描出する。従来Fucci(=Fucci(SA))は細胞周期依存的に相互に活性化化する2つのE3ユビキチンリガーゼSCF^{Skp2}とAPC^{Cdh1}の活性化動態を、それぞれのdegronを利用して蛍光の色変化として描出する(図1・上段)。実際には、SCF^{Skp2}のdegronとしてhCdt1(30/120)を赤色蛍光タンパク質に連結し、APC^{Cdh1}のdegronとしてhGem(1/110)に緑色蛍光タンパク質を連結することで、生きた状態でG1期にある細胞の核を赤色に、S/G2/M期にある細胞の核を緑色に、G1/S遷移期の細胞の核を

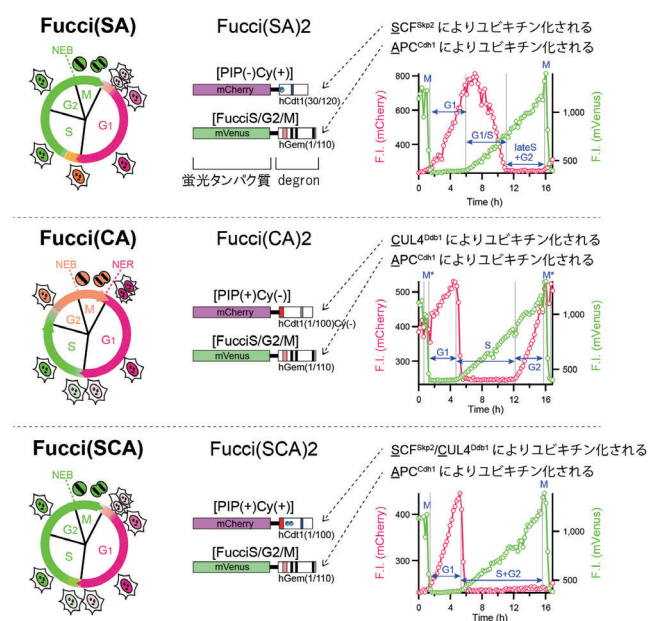


図1 Fucciレポーター

上段：Fucci(SA): E3ユビキチンリガーゼSCF^{Skp2}とAPC^{Cdh1}の活性化状態を反映し、G1期細胞の核を赤色に、S/G2/M期細胞の核を緑色に、G1/S遷移期の細胞の核を黄色にハイライトする。

中段：Fucci(CA): CUL4^{Ddb1}とAPC^{Cdh1}の活性化状態を反映し、G1期細胞の核を赤色に、S期細胞の核を緑色に、G2/M期細胞の核を黄色にハイライトする。

下段：Fucci(SCA): SCF^{Skp2}、CUL4^{Ddb1}とAPC^{Cdh1}の活性化状態を反映し、G1期細胞の核を赤色に、S/G2/M期細胞の核を緑色にハイライトする。

Fucciを構成する蛍光タンパク質に、mCherryとmVenusを用いたものをFucci(XX)2とした。それぞれのFucciを安定発現するHeLa細胞のタイムラプスデータより代表的なプロットを右側に示した。

黄色にハイライトしている¹⁾²⁾⁸⁾。Fucci(SA)では、imaging 条件によって、細胞分裂直後のearly G1に蓄積し始める赤色蛍光の取得が困難であるという欠点がある。一方、新規のFucci(CA)はCUL4^{Ddb1}とAPC^{Cdh1}の活性化動態を、それぞれのdegronを利用して蛍光の色変化として描出する。赤色蛍光タンパク質に、CUL4^{Ddb1}のdegronであるhCdt1(1/100)Cy(-)を連結することで、G1期の細胞の核を赤色に、S期の細胞の核を緑色に、G2/M期の細胞の核を黄色にハイライトする(図1・中段)。M期からG1期にかけて赤色蛍光が消失することはなく、この点においてFucci(SA)の欠点を克服している。またFucci(SCA)の構成要素であるhCdt1(1/100)は、SCF^{Skp2}とCUL4^{Ddb1}両者のdegronとなることを利用して、G1期の細胞の核を赤色に、S/G2/M期にある細胞の核を緑色に分離よくハイライトする(図1・下段)⁸⁾。

プローブの分解/蓄積速度の定量比較

Fucci(SA)2およびFucci(CA)2を安定発現するHeLa細胞株のタイムラプスイメージングデータについて、ホームメイドの自動細胞追尾システムおよび数値解析アルゴリズムを適用し、それぞれのFucciプローブの分解/蓄積速度の定量解析を行ったところ、Fucci(CA)2は、Fucci(SA)2に比べG1/S遷移における赤色蛍光プローブの分解速度が8倍以上早くなっており、この遷移を高い時間分解能で追跡できることが解った⁸⁾⁹⁾。CUL4^{Ddb1}によるユビキチン化を介したタンパク分解がSCF^{Skp2}によるユビキチン化を介したタンパク分解に比べ、速度にして約8倍強力である事が示されたことになる。G1期、S期、G2期、M期の全細胞周期を高い時間分解能で識別するには、Fucci(CA)が適している。また、G1/S遷移期は、細胞が休止期(G1)から増殖期へと進行するにあたり、様々な運命制御が行われる時期である。これらを解析する場合には、Fucci(SA)の利用が有効である。Fucciのdegronを、Cell-cycle Tagとして用いる試みも行われている。細胞周期依存性に機能タンパク質の分解/蓄積を制御するには、Fucci(SCA)の貢献が期待される。

UV-Cダメージ応答の細胞周期依存性を検出する(図2)

HeLa/Fucci(CA)2細胞がUV照射を受けた際の細胞周期情報を得るために、time-lapse imagingを継続したままUV照射を実行する実験系を構築した⁸⁾。0.2, 0.8, 2.4, 8, 24, 80, 240 J/m²それぞれのUV照射に対して2日間以上の細胞動態を追跡することで、2.4 J/m²までは、一部S期遅延などを経過しつつも通常の細胞周期に復帰すること、しかし8 J/m²を超えると、細胞の応答は急激に変化し、強いS期停止および、細胞核の巨大化がおこること、24 J/m²を超えると、照射後2日以内に細胞死に至る集団が出現すること、80 J/m²以上では、数時間のうちにUV照射時の細胞周期状態非依存性に多くの細胞が細胞死にいたること、などが明らかとなった。24 J/m²照射サンプル

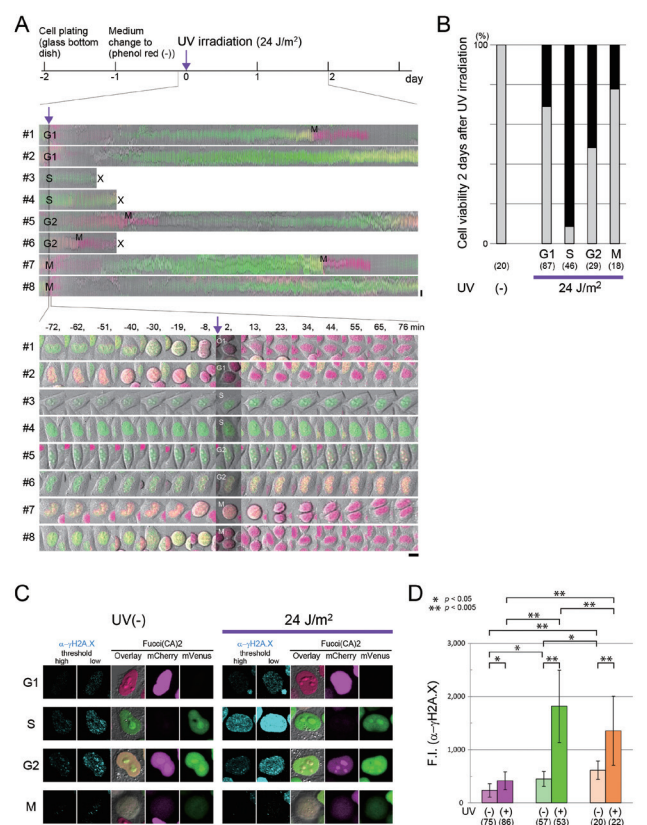


図2 UV-Cダメージ応答の細胞周期依存性を検出する

A: 上段:Fucci(CA)2を安定発現するHeLa細胞を用いたUV照射(24 J/m²)実験のタイムテーブル。

中段:UV照射時に各細胞周期に居た細胞のトラッキング画像。48時間分を横方向に圧縮して示してある。スケールバー: 10 μm。x: 細胞死。

下段:UV照射前後の未圧縮画像。スケールバー: 10 μm。

B: UV照射後48時間までの細胞生存率をUV照射時の細胞周期情報で分類。()の数は、トラックした細胞数。グレーバーが生存率。UV未照射サンプルをコントロールとして測定した。

C: UV照射(24 J/m²)後15分のサンプルを固定し、γH2A.X抗体で検出。スケールバー: 10 μm。左: UV未照射群。右のUV照射群では、DNA傷害のマーカであるγH2A.Xは、S期にある細胞の核を特に強く染色した。すなわち、UV感受性はDNA複製の最中が最も高いことが分かる。

D: 細胞周期ごとに、γH2A.X染色の蛍光強度をUV(-)または照射(24 J/m²)で計測し、平均値をプロットした。()は、計測した細胞数。有意差検定はBonferroni法による。UV非照射時にはγH2A.Xの染色はG2期で高い傾向にあること、UV感受性はS期に最も高いこと、などが分かった。

について詳細に解析すると、細胞死に向かうきっかけはUV照射を受けた際、その細胞が居た細胞周期と相関があることが確認された。実際には、図2 A, B に示すように、S期の状態でUV照射を受けると、多くが細胞死に向かう。また、図2 C, D に示すように、UV照射に反応したγH2A.Xの免疫染色像を観察してみても、S期に居た細胞が特にダメージを強く検知することが分かる。HeLa細胞においては、紫外線(UV-C)に対する感受性がS期に最も高い事が明らかである⁸⁾。今後は、紫外線に限らず各種放射線や抗がん剤などの薬剤の影響について、細胞

周期情報と絡めて細胞種依存的な応答性の解析を進める為に、
種々の Fucci(CA) 安定発現細胞株を整備していく。

マウス胚性幹細胞 (mESC) の各細胞周期滞在時間を計測する (図3)

未分化性を維持した胚性幹細胞は、細胞周期1周が10~12時間程度で分裂を繰り返し、G1期が非常に短い事が周知である。従来の Fucci(SA) ではG1期を検出しづらいという報告がされていた。Fucci(CA) は、細胞分裂直後からG1期を赤色蛍光で標識できるため、極端に短いG1期を含めて、各細胞周期滞在時間を確実に検出できる事が期待されることより、マウス胚性幹細胞 (mESC) の各細胞周期滞在時間の計測を行った⁸⁾⁹⁾。ここでは蛍光タンパク質の mCherry と AmCyan で構成される Fucci(CA)2.1 を安定発現する mESC を用いた。mVenus を使って、他の現象を同時に検出する実験を計画できる。また、長時間のタイムラプス実験系における培養および、イメージング手

法について mESC の未分化性を保ちつつ細胞周期の観察を可能とする条件を確立した。図3に示すように mESC の各細胞周期滞在時間を計測し、平均値を求めたところ、未分化性を維持した mESC の細胞周期は1サイクルが11時間程度であり、G1期はわずか1時間程度であることが確認できた。Fucci(CA) により、細胞周期一連を連続して標識できることより、3次元空間における mESC の個々の細胞の完全追跡が可能となった⁸⁾。

おわりに

Fucci技術は哺乳類動物を扱うあらゆる生命科学分野で応用が可能である。様々な場面で“細胞の増殖と分化 (運命決定) との間にある協調制御”に関する我々の理解を深めてくれる。がん、発生・再生研究だけでなく、動物脳における神経新生の検出、あるいは宇宙空間における細胞増殖分化の観察などにも適用が予定されている。Fucciに別の細胞機能プローブを組み合わせる事で解析の多角化を図り、同時にシミュレーションを試みながら、生命動態システムをより包括的に理解することを目指している。

参照 : <http://cfds.brain.riken.jp/Fucci.html>

http://www.riken.jp/pr/press/2017/20171027_1/

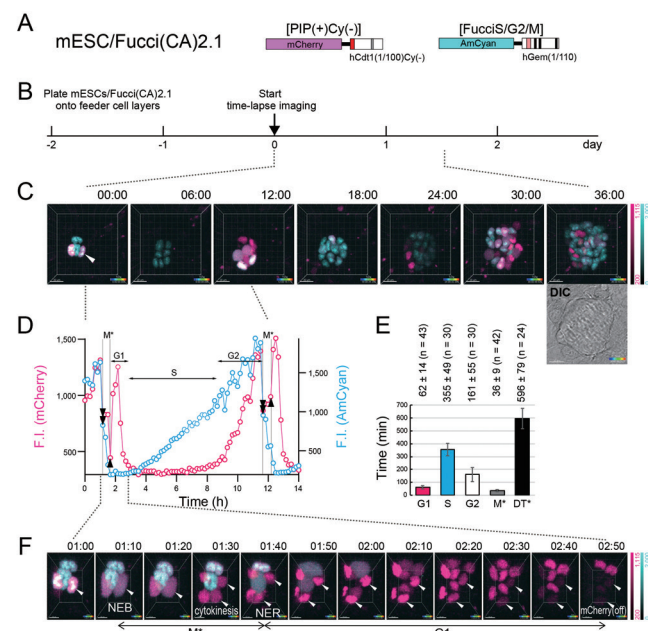


図3 マウス胚性幹細胞 (mESC) の各細胞周期滞在時間を計測する
A: Fucci(CA)2.1を安定発現する mESC を用いた。
B: タイムラプスイメージングの一連のタイムテーブル。
C: Fucci(CA)2.1 の蛍光3次元画像 (volume-rendered images)。タイムラプスイメージング開始時 (00:00) に4つの細胞からなる mESC のコロニー成長の様子を各表示時間で抽出した。G1期は赤、S期はシアン、G2/M期は白で示す。スケールバー: 20 μm。
D: C の白矢頭で示す細胞のプロファイル。縦軸: mCherry (左) もしくは AmCyan (右) の蛍光強度。下矢頭: NEB。上矢頭: NER。M* 期は NEB から NER の間と規定。
E: mESC の各細胞周期滞在時間を計測し平均値を求めたところ、未分化性を維持した mESC の細胞周期は1サイクルが11時間程度であり、G1期はおよそ1時間程度であることが確認できた。() は計測細胞数。
F: C, D でハイライトした細胞の4Dイメージを詳細に見ると、NEB, cytokinesis, NER, mCherry 蛍光シグナルの消失、の一連が明確に判断できる。スケールバー: 10 μm。

● 文献

1. Sakaue-Sawano A, et al : *Cell*, 132 : 487-498, 2008
2. Sakaue-Sawano A, et al : *BMC Cell Biol*, 12 : 2, 2011
3. Sakaue-Sawano A, et al : *Development*, 140 : 4624-4632, 2013
4. Sakaue-Sawano A, et al : *Cold Spring Harb Protoc*, 2014
5. Oki T, et al : *Sci Rep*, 4 : 4012, 2014
6. Yo M, et al : *BBRC*, 457 : 7-11, 2014
7. Zielke N, et al : *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol*, 68 : 626-640, 2015
8. Sakaue-Sawano A, et al : *Mol Cell*, 68 : 626-640, 2017
9. 阪上・沢野朝子, et al : 実験医学 2018年7月号 Vol.36 : 1913-1920
10. Buetow L and Huang DT : *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 10: 626-642, 2016

阪上・沢野 朝子

国立研究開発法人 理化学研究所
脳神経科学研究センター
細胞機能探索技術研究チーム



海外での活躍 1

North Carolinaでの独立にあたって

2008年8月から、ノースカロライナ州立大学シャーロット校、Department of Biological Sciencesで助教授として独立する事になりました、富田純也と申します。京都大学放射線生物研究センターで学位を習得後、高田教授のもとでポストドクを約3年した後、2011年から米国テキサス州立大学MD Anderson Cancer centerのThe Virginia Harris Cockrell Cancer Research CenterのWood博士の研究室に移りポストドクとして3年、その後インストラクターとして4年半勤め、現在に至ります。

今回、高田、原田両教授から、放生研ニュースに掲載させて頂く機会を頂いたので、どうやって米国で独立する事が出来たのか？を私の経験に基づいて、筆を執らせて頂きました。というのも、米国で就活を始めるにあたって、色々先輩方の経験談を探したのですが、なかなか見つからず、この就活は結構手探り状態でした。今、思えば、色々ラッキーな事？計画通り？が続いたおかげだと思っています。また、日本にいる若手研究者で、もし米国で職を得ようと思っている人がいれば、少しでも早い目に知っておいた方がいい事もあるので、少しでもお役に立てれば幸いです。6点ほど重要な点を挙げて見ました。また、私の研究の内容に興味のある方は、最近私の研究が掲載されたEMBO Jを読んで頂ければ光栄です。

まず何をするにも、きっかけが重要ですが、私の場合、少ない額ですがNIHのR03グラントが取れ、今の自分の位置はどれくらいかを確かめるために、ちょっと職を探してみるか！と思い立ったのがきっかけです。後になって分かったことですが、おそらくこのグラントを持って無ければ、今のポジションを得ることは出来なかったと言っても過言では無いと思います。というのも、米国では、大学外部からのグラント（自分自身が主任研究者:PIである）を持っている事が重要視されます。極端な話、三大誌を持っているよりもグラント持ちの方が重要視されます。もちろん三大誌に筆頭者で論文があれば、持っていない人に比べグラントは取りやすくなるという話は聞きますけど、私は残念ながら、三大誌どころか、その姉妹誌ですら筆頭者の論文は未だに持っていません。でも、グラントは運良く取れました。

米国で職を得るのに1つ目の重要な点は、学位を取って出来るなら10年以内に、自分がPIのグラント取るか、三大誌クラスの筆頭者の論文を最低2本+共著数本で、アカデミックな職を取れる可能性が上がります。実際、これら無しで応募しても、時間の無駄になりかねないです。

どうしてか？アカデミック・ポジションの採択率は米国全土で今7~10%と言われています。1つの枠に少なくとも100から300人もの応募があり、書類選考をパスするのは、ほんの10分の1くらい、約20~30分くらいの電話面接で3~5人まで減らし、現地面接でオファーの順位決定といった過程を進んでいきます。ほとんど、書類選考で除かれます。人によっては40から100も書類を提出し、ようやく1つ2つ書類選考に引かかるみたいです。申請書を出す前の私の算段は、NIHのR03グラントの採択率が約10%なので、グラントを持っていれば、大体応募した人の中で10分の1くらいに入り、書類選考パスする確率は高くなるだろうと。これが実際、功を奏し、締め切りギリギリもしくはすでに選考開始の応募9校のを足して全部で27大学に出して2つ電話面接、1つ現地面接という結果でした。

2つ目の重要な点：どれだけ自分の分野と応募とが合致しているか？いくらグラントを持ってようが、三大誌持っていようがDepartmentの進みたい方向、求めているものと合わなければ、やはり結果は厳しいです。これを見極めるのは、募集要項だけでなく、募集しているDepartmentのホームページで他のPI仕事や研究内容も調べる必要があります。私の場合、就活を始めたのが遅かった（10月末）為、締め切りギリギリもしくはすでに選考開始の応募9校に対して、十分な下調べが出来ず、投稿し、もちろん結果は言うまでもありません。早いところで7月、8月から募集を始めるみたいです。

3つ目の重要な点：募集開始時期の数ヶ月前から準備を始め、直前に少しの手直しで済むように、何パターンか作っておくと慌てなくて済みます。私の場合、書類によりますが、3パターンは用意しました。

4つ目の重要な点：書類の準備！用意すべき書類は、必須3点Research Plan（3ページ）、CV（履歴書）とCover Letter、List of References（推薦状を書いてくれる人：3~4人）大体この3点だけ必要とする募集する場所は、米国トップクラスの大学もしくは研究所で、非常に競争が激しいです。何故なら教育の義務がなく、研究だけに集中！常に三大誌クラスをだす！そんな同僚（猛者）が沢山いる所です。私は記念受験の様な感覚で出するか、募集があっても無視しました。教育もする所となると、Teaching philosophy（1ページ）が必須です。稀にResearch Accomplishments（1ページ）を要求してくる所もありました。Research Accomplishmentsは、用意しておく、後々使い勝手がいいです。またPersonal Statementsも時々要求されますが、私は全く手をつけなかったの、これを

要求する大学は無視しました。全部出す暇は、ほぼないです。日頃の実験、論文書き、申請書類作成、時間がいくらあっても足りないくらいでした。とにかく、必須3点が重要。Research Planはしっかり練り上げ、履歴書も綺麗に仕上げる事です。推薦状を書いてくれる人の確保は、応募にたどり着く時期までに、親密な共同研究者を作る事です。少々の知り合い程度では中々いい推薦状は書いてもらえませんので。教育もする所への応募には、授業の経験は必要ないです（授業専門の大学は多分必要）。私はTeaching philosophyに授業の経験はないと書きましたし、なくても現在のポジションを得ています。ただ、Teaching philosophyには、もちろん教育についての自分の考えや思い、研究生活でのいろんな経験、米国特有の多様性についても盛り込みました。

5つ目の重要な点：電話面接の準備。書類選考が通ると書類選考開始から1ヶ月以内に電話面接の日時を決めるメールが届きます。ほとんどの大学は何も連絡が来ずに、選考は終わります。稀に、数ヶ月後に落ちましたよ！メールが来ます（いらないですけど）。電話面接までの準備期間は約1週間。全力でその大学、Departmentを調べ上げて下さい。もちろん、自分の研究の説明も手短に出来るように日々練習です。米国特有の質問も飛んでくるので、その辺も抜かりなく。

6つ目の重要な点：現地面接！電話面接の可否は1週間前後。味気ないですが、これもメールで可否がきます。もちろんパスしていれば、現地面接の日程調整。現地面接は2泊3日、その間にいろんな人と面接をします。そして、自分の研究セミナー約45分。私は無かったのですが、大学や研究所によって、Chalk talkを要求されることがあります。やってないので、説明できませんが、自分の研究プランについて質疑応答があると聞いています。とにかく約1ヶ月、セミナーの準備、面接する人の研究内容の論文をできるだけ読む。約24人と会う予定になっていたのも、Departmentの研究者約16人分：最近3年間の論文の要旨をまとめ当日の面接に備えました。とにかく、当日は笑顔！笑顔！緊張で食事もう喉を通らずとも、笑顔を絶やさず。帰りの飛行機では、完全に抜け殻状態で、もう二度とこんな面接やりたくないと思うほどでした。それから、可否発表まで、約1ヶ月半。その間に、私の場合、論文投稿があり少し、気が紛れましたが、もし忙しくなかったら、毎日が結構苦痛だったと思います。晴れて、4月16日にDepartment Chairからまだノースカロライナ州立大学シャーロット校のポジションに興味あるかメールが届き、その日に電話で最終候補の1番手に選ばれた旨の電話を受けました。もちろん断る理由はなく、その後は着任に向けてのスタートを始めました（実はこの手続も結構厄介で、大変でした）。

着任してまだ1、2ヶ月ですが、ノースカロライナ州立大学シャーロット校は非常にいい雰囲気のもった大学です。特に

Department of Biological Sciencesの職員の同僚も気さくで、親切な人ばかりです。こんな人たちに囲まれて研究できるのは、幸せ者だと思つづくと思っています。ホームページを見てもらったら分かると思いますが、ここには色んな分野の人がいます。分野の違う人たちの話を聞くのも、テキサス時代とは違って新鮮です。違和感と言えば、大学のロゴ（図1）を見るといつも、戦隊モノ？と思ってしまう（私だけかな？）。どの建物も基本外側が煉瓦造りで、結構気に入っていますし、大学構内を歩くのが、いつも楽しいです。夜景しかDepartment



図1



図2

of Biological Sciencesの写真（図2）がなかったので申し訳ないのですが、昼間も非常に綺麗です（中身は結構古いですけど）。良かったら、ホームページでも見に来て下さい。

今回、紹介させて頂いた重要な6点は、ほんの基本的な事です。もっと細かいことを言えば、留学するにあたっての将来設計（結構大事）。どうやってグラントを取りに行ったの？どうやって書類準備したの？米国特有の質問対策は？現地面接での注意点など、まだまだ、書きだしたらキリがないです。でも、今回の紹介で、少しでも職探しの流れ、雰囲気などを味わってもらえれば光栄です。私自身、まだ、テニユアトラックに乗っただけですから、これからテニユアをしっかり取れるよう益々精進していかなければ！と思っています。長くなりましたが、もし、アメリカ研究生活に興味がありましたら、メールでも、学会であった時にでも、気軽に声を掛けて下さい。少しでも、お力になれるようなアドバイスが出来ればと思っています。



富田 純也

ノースカロライナ州立大学
シャーロット校
Department of Biological Sciences

海外での活躍 2

UNIST IBSでの独立にあたって

初めまして、UNIST IBS (Institute of Basic Science) の高田慶一と申します。2018年7月1日付でIBSのSection Headに着任いたしました。放生研ニュースを通じ、京都大学放射線生物研究センターの皆様にご挨拶できますことを大変嬉しく思っております。ご挨拶を兼ねて、UNIST IBSおよび研究室の紹介をさせて頂きたいと思います。

UNISTは2009年に設立されたばかりの新しい国立理系大学で、2020年までに基礎研究をリードする大学の一つとして世界に認められる存在になることを目標に掲げています。最新の研究設備、潤沢な研究費を用意し、世界から研究者をリクルートしています。また、熱意あふれる学生を集めるために海外に宣伝に赴き、スカラーシップ制度の紹介などを積極的に行っています。大学内の授業、講演、研究発表や討論は全て英語で行われており、国際的に活躍することを志す学生が熱意を持って勉学に励んでいます。私は、このような新しい風潮、アジアにおける国際色豊かな環境、基礎研究を重視するUNISTの姿勢に好感を持っています。



UNISTキャンパスの風景

IBSはUNISTに付属する研究施設です。IBSの研究費は、政府から全面支援されているため、国内グラントへの応募は行わないよう通達されています。IBSに移る以前に所属していた、テキサス大学MDアンダーソンがんセンターでは、(語弊があるかもしれませんが) グラント獲得は何よりも大切でした。グラント申請の合間に研究を行っている「楽しそうだね」と声をかけられることもありました。そのような環境からIBSに移り、少し戸惑いながらも基礎研究に集中できる環境を提供して頂いていることにとても感謝しています。(外部組織による研究所の厳格な審査があり、そのための

研究申請書作成があるので、申請書フリーという訳ではありません。)

私の研究室 (Molecular Cancer Research Section) は、IBSのCGI (Center for Genomic Integrity) の傘下にあります。CGIには、DNA修復/複製機構に興味を持つ総勢約70名の研究者が所属しています。CGIメンバーは、互いの研究を理解し、興味を共有できるので、研究室間の共同研究が活発に行われています。研究ツールの共有、プロGRESSミーティングでの率直な意見交換も行われており、良い研究環境が整っていると思います。

私の研究内容の紹介ですが、がんで見つかるDNA変異のメカニズムを明らかにすることで、がんの予防・治療に応用できる成果を得ることを目指しています。がんの種類により、特徴あるDNA変異が見つかることが明らかにされています(cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signatures)。例えば、皮膚がんではシトシンからチミンへの変異(COSMIC signature 11)、肺がんではシトシンからアラニンへの変異(COSMIC signature 4)が多く見つかります。COSMIC signature 11は紫外線で導入されるピリミジン二量体を複製する際に起こるエラー、COSMIC signature 4は煙などに含まれるベンゾアピレンによるDNA損傷が原因で導入されると考えられています。COSMIC signatureでメカニズムが示唆されているものはごく僅かで、大部分は分かっていません。私が特に注目しているCOSMIC signature 3は、乳がん、卵巣がん、すい臓がんで頻繁に見つかるDNA変異です。COSMIC signature 3は、マイクロホモロジーを利用したDNA二重鎖切断修復(alternative end joining, altEJ)の産物と考えられ、



IBS (研究所) の外観

どの遺伝子がこの特徴的なDNA変異を促進させるのかを研究により明らかにし、将来的にはCOSMIC signature 3を軽減させることで乳がん、卵巣がん、すい臓がんのリスクを減少させる可能性を探りたいと考えています。興味を持っていただいた方は、ご連絡頂ければと思います (mcrs.chemicalcancerbiology.org)。

放生研の高田穰センター長と富田純也先生（現ノースカロライナ大）には、共同研究で貴重なサンプルを提供して頂くなど大変お世話になっております。また、上述しましたマイクロホモロジーを利用したDNA二重鎖切断修復機構は、放射線感受性にも関与しますので、放生研の先生方からご助言いただけましたら幸いです。

最後になりますが、放生研の皆様にご挨拶をさせていただく機会を与えてくださった高田穰教授と原田浩教授にお礼を申し上げますと共に、放生研の益々のご発展をお祈り申し上げます。

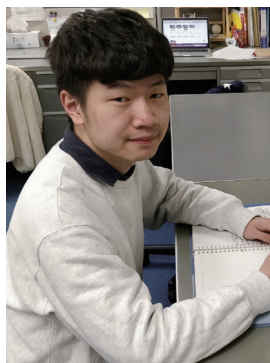


Welcomeメッセージ

高田 慶一
UNIST IBS
(Institute of Basic Science)



平成30年度 新人紹介



曹 子牧さん
(ソウ シボク)
ゲノム動態研究部門
がん細胞生物学分野
(小林グループ)
研究生

はじめまして、私は小林研究室所属の研究生曹子牧(ソウ シボク)と申します。出身地が中国の山東省です。趣味は散歩です。学部時代は大連海事大学で少し細胞の損傷について勉強しましたが、これから放生研でもっと深い研究をしたいです。今京都大学の修士入学試験のために勉強しております。未熟で至らぬところがたくさんありますので、皆さんに迷惑をかけないように頑張ります。どうぞよろしくお願いいたします。



辜 宸阳さん
(Gu Chenyang)
晩発効果研究部門
ゲノム損傷応答学
大学院生(修士)

I am a master 1 student. I graduated from Peking University, China and joined the Takata lab (Lab of DNA damage signaling) this year. I studied physics in undergraduate school, and have research experience in modeling and simulation of 3D genome structure. I am interested in interdisciplinary studies and I hope my physics background can help me have a unique point of view on life science topics. I am now learning NGS and bioinformatics, and I hope to make an achievement in this field.

第42回放射線生物研究連絡会議総会議事録

日時：平成30年11月7日(土) 12時50分～13時10分

場所：長崎ブリックホール 2F

本総会は日本放射線影響学会第61回大会 B 会場にて第1日目の昼食時に開催された。議事に先立ち、本年7月にご逝去された武部啓先生に対し、黙祷を捧げた。武部啓先生は放生研の最初期の教授のお一人で、センター長も務められ、放生研の発展と連絡会議に多大な貢献をなさいました。つづいて、議長に田内広氏、書記に古谷寛治氏を指名して議事に入った。

1) 京都大学放射線生物研究センターからの現状報告

高田穰センター長より、まず放生研と京都大学大学院生命科学研究科との統合について報告があった。放生研は平成30年4月をもって生命科学研究科の附属センターとなった。放生研教員は全員生命科学研究科の基幹講座「ゲノム生物学講座」の教員となったこと、新たに生命科学研究科より石川冬木教授・三好知一郎准教授（放射線ストレス応答部門）と Peter Carlton 准教授（染色体継承機能部門）の2グループが加わったことが報告された。続いて、第34回放生研国際シンポジウム（2018年11月10-12日）と次年度の放射線影響学会（2019年11月14-16日於、京都大学、大会長：高田穰）の準備状況及びアナウンスがなされた。また、共同利用施設・設備について、学内経費による「動物実験施設」の新設を含め違いの研究リソースの有効活用が可能とのことで共同利用の活性化の可能性が期待される点が述べられた。共同利用拠点活動に関する報告と共同利用・共同研究拠点に係る中間評価の結果（判定B）が報告され、今後の共同利用課題の増加や、外部運営委員として民間や異分野の人員を取り入れる可能性が示された。

3) その他

放生研各種委員および連絡会議幹事選挙の準備にはいることが告知された。

（文責：古谷・田内）

編集後記

放生研ニュース163号（2018年12月号）をお届けします。

今年のノーベル賞ウィーク、本庶佑先生の生理学・医学賞受賞という大きなニュースが飛び込んで参りました。放射線治療と相性の良い免疫チェックポイント阻害剤、今回のビッグニュースが放射線生物学分野の盛り上がりにつながれば…と期待してしまいます。

巻頭で少し触れました通り、今年の放生研国際シンポは高田センター長のオーガナイズの下、国内外からの招待講演者を多数迎え、盛会裡に閉会いたしました。シンポジウムの詳細は、2019年3月に発行予定の第164号でレポートする予定です。

平成31年度の放生研・共同利用研究を募集しております。締め切りは平成31年1月18日です。詳細は放生研ホームページでご確認下さい<<http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/>>。

放生研では一年毎の活動内容をまとめた年報を発行し、皆さまのお手元にお届けして参りました。しかし、ペーパーレス時代の流れを受け、今年度から共同利用研究者の皆様におのみ紙媒体を郵送させて頂くことと致しました。デジタル版は放生研ホームページ<<http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/>>でご確認頂けますので、悪しからずご了承ください。

（原田 浩）



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

〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

編集委員 原田 浩、小林 稔、子安 翔、和田 佳子

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

