

遺伝生化学研究室

Cellular & Molecular Biology Laboratory

主任研究員 柴田 武彦
SHIBATA, Takehiko

相同 DNA 組換えは互いに相同な二本鎖 DNA 分子の間で互に対応する DNA 部分を交換または置き換える現象である。これは、普遍的な遺伝現象であり、遺伝、進化の要に働く一方、これまでも農業生物等の育種・改良の主要な手段であった。遺伝子治療など、ゲノム全体を対象とする新技術の核としても期待されているが、人為的制御手段の不在が壁である。確率現象といわれてきた相同 DNA 組換えも、実際には生体のプログラムにより緻密に調節されている。そこで、相同組換えの遺伝・進化での機能、調節の機構の解明を目指し、相同組換えの未知の機能を探る一方、そこに働く生体分子群とそれらの相互作用の分子構造と機能、それら生体分子群をコードする遺伝子の変異効果の解析を基礎に、相同組換えの開始の分子機構、ゲノムの構成の動態、遺伝機構についての理解を進めてきた。その成果として、従来の技術の壁を越える道筋が見え始めてきた。

1. 組換え開始の分子生物学と、生体高分子間相互作用解析のための NMR 分光法

(1) 組換え開始の分子生物学 (美川, 伊藤, 井川, 太田, 柴田, 高杉^{*1}, 吉益^{*2}, 八森^{*3}, 斎藤^{*3}, 本多^{*4})

相同組換えは、両親のそれぞれに由来する相補鎖からできる分子間二本鎖、ヘテロ二本鎖を共通の中間体として起こる。ヘテロ二本鎖は、生体内では、二本鎖切断、切断端の一本鎖化、その一本鎖部分と相手の二本鎖 DNA との間でのヘテロ二本鎖形成を経てできる。一本鎖部分と二本鎖 DNA との反応は RecA/Rad51 属タンパクが行う。これまで RecA/Rad51 属タンパクの結合で誘導される特異な伸長 DNA 構造を NMR 分光法を用いた解析で明らかにし、それを基に分子立体構造データに基づくはじめてのヘテロ二本鎖形成反応機構モデルを提出した。本年度は相同組換え開始を支配する制御された二本鎖切断の要に働く Mre11 と DNA の相互作用についての研究を行った。Mre11 は Rad50 や Xrs2 と複合体を形成し、Spo11 による二重鎖切断を制御すると言われている。これまでに、Mre11 の C 末端領域を欠損した変異株は二重鎖切断やそれに先立つ染色体構造変化を行えないことや、この領域を欠失した変異タンパク質は DNA 結合能の低下を示すことを明らかにしている。これらのことは、Mre11 の C 末端領域が DNA と直接相互作用することを示唆する。そこで、Mre11 の C 末端領域における DNA 結合能を NMR 分光法を用いて解析することを始めた。安定同位体標識された Mre11 の C 末端領域を調製し、NMR スペクトルを DNA の有無双方で測定したところ、顕著な化学シフトの変化が観察された。このことから、Mre11 の C 末端領域が直接 DNA と相互作用することが明らかになった。

(2) 生体高分子間相互作用解析のための NMR 分光法 (伊藤, 柴田, 高杉^{*1}, Rajesh^{*5}, 倉島^{*3})

DNA-タンパク質、タンパク質-タンパク質間の相互作用を解析するために、分子量 30~40kDa のタンパク質複合体を標的とした構造解析法の開発を行った。酵母 YUH1 と ubiquitin (Ub) 共有結合複合体 (35kDa) をモデルとして

解析を行った。重水素化などの手法を駆使することによって、YUH1 側 Ub 側ともほとんどすべての主鎖 $^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ と側鎖 ^{13}C シグナルを帰属することができた。この結果を基に選択的プロトン標識試料を用いて側鎖 ^1H シグナルの帰属を行っている。現在、従来の NOE を用いた手法と、残余双極子カップリングや常磁性効果などの遠位距離情報を得る手法を組み合わせ、高次構造解析法の確立を目指している。

2. 個体における核ゲノムの安定性と組換え制御 (川崎, 中山^{*3}, 丸山^{*3}, 柴田)

(1) ショウジョウバエ相同的組換え関連遺伝子産物 RECQE タンパクの機能

ショウジョウバエより見いだした RECQE タンパクの精製を引き続き行い、その性状を明らかにした。すなわち RECQE タンパクの ATP 分解活性は単鎖 DNA 依存性を強く示し出芽酵母やブルーム症候群原因遺伝子産物の各 RecQ ファミリーとは性格を異にした。これに加えて ATP 分解活性より強い GTP 分解活性を見いだした。このような性質は RecQ スーパーファミリーのみならず、DNA ヘリカーゼの中でもめずらしい。ATP 分解活性と GTP 分解活性が同一の活性中心に由来している結果を得た。また、この GTP 分解活性がヌクレオチド結合モチーフ内のアミノ酸の違いに由来している可能性を示した。他の結果と合わせて RECQE タンパクが新しいタイプの RecQ ホモログである可能性を示し、RECQE タンパクの反応機構としてモデルを提出した。

(2) 初期胚での RECQE タンパクと共同して働くタンパク

RECQE は RecQ スーパーファミリーに保存されるヘリカーゼ領域および特異的領域に加え最長のユニークな C 末側領域を有し、N 末領域は非常に短い。RECQE タンパク C 末側領域との融合タンパクによる遺伝子発現活性化を指標とした酵母 2-hybrid 法によりショウジョウバエ初期胚の cDNA ライブラリなどをスクリーニングした。その結果、5つの候補を得ることができた。さらにグルタチオン-S-転

移酵素との融合タンパクとグルタチオンの特異的結合を利用した GST pull down 法によりその物理的相互作用について検討をした結果、5つのうち2つについてその相互作用を確認した。加えてさらにもう2つ物理的相互作用を行う候補を見いだした。また、ショウジョウバエ培養細胞に RECQE とこれと物理的相互作用を行う候補を導入しそれぞれの細胞内局在、免疫沈降法による検討などを行った。これらの結果から、RECQE タンパクは他のタンパクと共同して核ゲノムの安定化と組換え制御を行い、初期胚での正確で迅速な S 期の進行に関わっている可能性が示された。

3. ミトコンドリア DNA の組換え機能 (凌, 柴田, 千本木^{*1}, 高野^{*4})

MHR1 遺伝子の 1 塩基置換変異である *mhr1-1* は、我々が初めて見つけたミトコンドリア DNA の相同組換えを著しく損う変異である。この *mhr1-1* は、更にミトコンドリアでの DNA 修復を損うばかりではなく、ミトコンドリア DNA の保持にも欠損を示す。生物界で広く見られる細胞レベル、個体レベルでミトコンドリア DNA のコピーを均一にし、それを維持する現象、ホモプラスミー成立過程にも欠損を示すことを見いだした。さらに、*mhr1-1* でみられるミトコンドリア DNA 脱落は、単にミトコンドリア DNA の酸化損傷の修復ができないことによるばかりではなく、細胞分裂 (発芽) で新生ミトコンドリア DNA が娘細胞へ分配される過程に欠陥があることを明らかにした。

Mhr1 タンパクを大量発現すると、このタンパクの機能依存的に、大腸菌細胞の分裂、核様体の分離を妨げることを見いだした。この表現型は複製した DNA の分離を抑制する変異と共通である。Mhr1 タンパクを大腸菌細胞で大量発現し、精製したところ、二本鎖 DNA、一本鎖 DNA に結合する活性を持つこと、この活性は、*mhr1-1* 変異で無くなること、更に、大腸菌での核様体の分離抑制を説明する活性として、DNA を凝集させる活性を持つことを見いだした。

これらの研究と並行して、ミトコンドリア DNA の損傷修復に関わる変異株の選択の過程で単離した鉄イオンの異常蓄積をもたらすミトコンドリア ABC transpoter の遺伝子の 1 アミノ酸置換変異、*atm1-1* 示す変異表現型は、細胞内で発現させた人のオルソログ、MTABC3 が相補することが分かり、*atm1-1* 細胞は、ヒトの MTABC3 遺伝子の細胞機能を調べる系としても使えることが分かった。

4. アポトーシスの分子生物学

(1) アポトーシス実行に関わるタンパク質分解酵素の性状解析 (森島, 中西^{*4}, 清和^{*3})

カスパーゼ-12 が哺乳類細胞の小胞体にかかるストレスに依存して活性化し、細胞を死に至らしめることを明らかにした。

(2) 分子シャペロンの持つ未知機能の解明 (森島, 柴田, 水村^{*1})

分子シャペロン、HSP70 はミトコンドリア内で特定の酵素に結合し、その基質特異性、安定性、比活性を大きく変換させる。HSP70、酵素それぞれの分子内における結合領域および活性変換に関わる領域の限定を進めた。

^{*1} 基礎科学特別研究員, ^{*2} ジュニア・リサーチ・アソシエイト, ^{*3} 研修生, ^{*4} 研修生 (埼玉大学院), ^{*5} 協力研究員

誌 上 発 表 Publications

(原著論文) *印は査読制度がある論文誌

Umemura K., Komatsu J., Uchihashi T., Choi N., Ikawa S., Nishinaka T., Shibata T., Nakayama Y., Katsura S., Mizuno A., Tokumoto H., Ishikawa M., and Kuroda R.: "Atomic force microscopy of RecA-DNA complexes using a carbon nanotube tip", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **281**, 390-395 (2001). *

Sugahara M., Mikawa T., Kumasaka T., Yamamoto M., Kato R., Fukuyama K., Inoue Y., and Kuramitsu S.: "Crystal structure of a repair enzyme of oxidatively damaged DNA, MutM (Fpg), from an extreme thermophile, *Thermus thermophilus* HB8", *EMBO J.* **19**, 3857-3869 (2000). *

Kawaguchi S., Müller J., Linde D., Kuramitsu S., Shibata T., Inoue Y., Vassilyev D. G., and Yokoyama S.: "The crystal structure of the ttCsaA protein: An export-related chaperone from *Thermus thermophilus*", *EMBO J.* **20**, 562-569 (2001). *

Kurumizaka H., Aihara H., Ikawa S., and Shibata T.: "Specific defects in double-stranded DNA unwinding and homologous pairing of a mutant RecA protein", *FEBS Lett.* **477**, 129-134 (2000). *

Mishima M., Hatanaka M., Yokoyama S., Ikegami T., Walchli M., Ito Y., and Shirakawa M.: "Intermolecular ³¹P-¹⁵N and ³¹P-¹H scalar couplings across hydrogen bonds formed between a protein and a nucleotide", *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 5883-5884 (2000). *

Mitsuhashi N., Miki T., Senbongi H., Yokoi N., Yano H., Miyazaki M., Nakajima N., Iwanaga T., Yokoyama Y., Shibata T., and Seino S.: "MTABC3, a novel mitochondrial ATP-binding cassette protein involved in iron homeostasis", *J. Biol. Chem.* **275**, 17536-17540 (2000). *

Takada S., Shibata T., Hiraoka Y., and Masuda H.: "Identification of ribonucleotide reductase protein R1 as an activator of microtubule nucleation in *Xenopus* egg mitotic extracts", *Mol. Biol. Cell* **11**, 4173-4187 (2000). *

Ling F., Morioka H., Ohtsuka E., and Shibata T.: "A role for MHR1, a gene required for mitochondrial genetic recombination, in the repair of damage spontaneously introduced in yeast mtDNA", *Nucleic Acids Res.* **28**, 4956-4963 (2000). *

Umemura K., Komatsu J., Uchihashi T., Choi N., Ikawa S., Nishinaka T., Shibata T., Nakayama Y., Katsura S., Mizuno A., Tokumoto H., Ishikawa M., and Kuroda R.: "RecA-double stranded DNA complexes studied by atomic force microscopy", *Nucleic Acids Symp. Ser.*, No. 44, pp. 213-214 (2000). *

(総 説)

太田邦史, 水野健一, 古瀬宗則: "組換えホットスポットに

おけるクロマチン構造再編成の分子機構”, 生物物理 **39**, 154-158 (1999).

Yokoyama S., Matsuo Y., Hirota H., Kigawa T., Shirouzu M., Kuroda Y., Kurumizaka H., Kawaguchi S., Ito Y., Shibata T., Kainosho M., Nishimura Y., Inoue Y., and Kuramitsu S.: “Structural genomics projects in Japan”, Prog. Biophys. Mol. Biol. **73**, 363-376 (2000).

柴田武彦: “バイオデザイン研究の展開: 相同 DNA 組換えとその制御機構の研究を例に”, 化学と生物 **38**, 541-548 (2000).

(その他)

柴田武彦, 太田邦史: “遺伝子制御: DNA 組換え”, 分子生物学, 田沼靖一 (編), 丸善, 東京, pp. 90-99 (1999).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Mikawa T., Nishida K., Ito Y., and Shibata T.: “Heteronuclear NMR based mapping of amino acid residues of RecA protein involved in DNA binding”, 41st ENC Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conf., Pacific Grove, USA, Apr. (2000).

Ito Y., Rajesh S., Sakamoto T., Tanaka T., Iwamoto M., Shibata T., and Kohno T.: “NMR studies on the interaction of ubiquitin with yeast ubiquitin hydrolase”, 41st ENC Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conf., Pacific Grove, USA, Apr. (2000).

Takasugi K., Rajesh S., Iwamoto M., Kohno T., Shibata T., and Ito Y.: “Relaxation study of the backbone dynamics of yeast ubiquitin hydrolase by ^1H - ^{15}N NMR”, 41st ENC Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conf., Pacific Grove, USA, Apr. (2000).

Eki T., Shiratori A., Shibata T., Arisawa M., Fujimori F., Okuhara K., Murakami Y., and Hanaoka F.: “Systematic identification and characterization of the novel genes which encode helicase-related proteins in *Saccharomyces cerevisiae*”, 13th Ann. Cold Spring Harbor Meet. on Genome Sequencing & Biology, New York, USA, May (2000).

Shibata T.: “A multifunctional nuclear gene, MHR1, that plays fundamental roles in mitochondrial genetic inheritance in yeast *Saccharomyces*”, Seminar at Institut Pasteur, Paris, France, May (2000).

Kurumizaka H., Kagawa W., Ikawa S., Nakada M., Yokoyama S., and Shibata T.: “Complex formation and homologous pairing activity of the human DNA repair proteins, Xrcc3, Rad51C, and Rad51”, 65th Cold Spring Harbor Symp. on Quantitative Biology: Biological Responses to DNA Damage, New York, USA, May-June (2000).

Eki T., Shiratori A., Shibata T., Arisawa M., Fujimori F., Okuhara K., Murakami Y., and Hanaoka F.: “Systematic identification and characterization of the novel genes which encode helicase-related proteins in *Saccharomyces cerevisiae*”, 65th Cold Spring Harbor Symp. on Quantitative Biology: Biological Responses to DNA

Damage, New York, USA, May-June (2000).

Kawasaki K., Jeong S. M., Nguyen Q. D., and Shibata T.: “Identification of *drosophila melanogaster* RECQE as a member of a new family of RecQ homologues preferentially expressed in early embryos”, 65th Cold Spring Harbor Symp. on Quantitative Biology: Biological Responses to DNA Damage, New York, USA, June (2000).

Ling F. and Shibata T.: “A recombination protein, Mhr1-dependent establishment of homoplasmy and mitochondrial DNA partitioning in yeast”, Gordon Research Conf. on Mitochondria & Chloroplast, New London, USA, June (2000).

Kawasaki K.: “*Drosophila melanogaster* RECQE DNA helicase: A member of a new family of RecQ homologues that is preferentially expressed in early embryos”, State University of New York Stony Brook, Department of Pharmacological Sciences Seminar, New York, USA, June (2000).

Mizuno K., Wahls W. P., Hasemi T., Ubukata T., Watanabe Y., Iino Y., Yamamoto M., Fox M. E., Smith G. R., Kohli J., Shibata T., and Ohta K.: “Signaling for meiosis induces chromatin remodeling to activate homologous recombination”, Gordon Research Conf. on Molecular Genetics, New London, USA, July (2000).

Murakami H., Theis J. F., Newlon C., Malkova A., Haber J. E., Shibata T., and Ohta K.: “Chromatin structure defined by *ARS310* on yeast chromosome”, 1st Salk Institute Conf. on Eukaryotic DNA Replication, San Diego, USA, Sept. (2000).

Seo H., Okuhara K., Yamada T., Kurumizaka H., Ohta K., Shibata T., Akiyama T., and Murofushi H.: “Involvement of DNA unwinding factor (DUF)/FACT in the modulation of chromatin structure”, 1st Salk Institute Conf. on Eukaryotic DNA Replication, San Diego, USA, Sept. (2000).

Ito Y., Mikawa T., Nishinaka T., Aihara H., Kurumizaka H., Yokoyama S., and Shibata T.: “NMR studies on genetic recombination”, 4th ICRS Int. Symp., (Institute for Chemical Reaction Science, Tohoku University), Sendai, Nov. (2000).

Kurumizaka H., Kagawa W., Nakada M., Ikawa S., Shibata T., and Yokoyama S.: “The human DNA-repair proteins, Xrcc3-Rad51C, promotes homologous pairing”, Int. Conf. on Structural Genomics 2000 (ICSG2000), Yokohama, Nov. (2000).

Kagawa W., Kurumizaka H., Shibata T., and Yokoyama S.: “The human Rad52 protein promotes homologous pairing”, Int. Conf. on Structural Genomics 2000 (ICSG2000), Yokohama, Nov. (2000).

Okumura A., Kuroda Y., Kuramitsu S., Shibata T., Inoue Y., and Yokoyama S.: “Identification of folded protein domains candidate to high-throughput structure determination: A pilot experiment using the *Thermus thermophilus* genome”, Int. Conf. on Structural Genomics 2000 (ICSG2000), Yokohama, Nov. (2000).

- Shibata T., Nishinaka T., Ito Y., Mikawa T., Aihara H., Kurumizaka H., and Yokoyama S.: "Molecular structures for heteroduplex joint-formation in homologous genetic recombination", Int. Conf. on Structural Genomics 2000 (ICSG2000), Yokohama, Nov. (2000).
- Inoue M., Kigawa T., Shirouzu M., Tachida Y., Inoue M., Kawaguchi S., Shibata T., Inoue Y., Kuramitsu S., and Yokoyama S.: "Solution structure of the *Thermus thermophilus* hypothetical protein 258", Int. Conf. on Structural Genomics 2000 (ICSG2000), Yokohama, Nov. (2000).
- Terada T., Shirouzu M., Kawaguchi S., Masui R., Nureki O., Vassilyev D. G., Wada T., Inoue M., Ishii R., Katsura Y., Kukimoto M., Nakano N., Trakhanov S., Inoue M., Tachida Y., Hashimoto K., Goto M., Tajima K., Kigawa T., Yabuki T., Asanuma M., Hirota H., Inoue Y., Shibata T., Kuramitsu S., and Yokoyama S.: "Structural studies on new functional proteins and proteins involved in transcription and translation of *Thermus thermophilus* HB8", Int. Conf. on Structural Genomics 2000 (ICSG2000), Yokohama, Nov. (2000).
- Mizuno K., Hasemi T., Ubukata T., Wahls W. P., Watanabe Y., Iino Y., Yamamoto M., Fox M. E., Smith G. R., Lehmann E., Kohli J., Shibata T., and Ohta K.: "Early meiotic signal controls chromatin remodeling at recombination hot spot in fission yeast", Int. Workshop on Dynamics and Algorithms of Chromosome Function, (The Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas, The Ministry of Education Science, Sports and Culture of Japan), Hiroshima, Nov. (2000).
- Murakami H., Theis J. F., Newlon C., Malkova A., Haber J. E., Shibata T., and Ohta K.: "A replication-dependent repair may require accessible chromatin on ARS", Int. Workshop on Dynamics and Algorithms of Chromosome Function, (The Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas, The Ministry of Education Science, Sports and Culture of Japan), Hiroshima, Nov. (2000).
- Shibata T., Nishinaka T., Mikawa T., Aihara H., Kurumizaka H., Yokoyama S., and Ito Y.: "Homologous genetic recombination as an intrinsic dynamic feature of DNA molecular: A suggestion from structural studies on RecA/Rad51-mediated heteroduplex joint-formation", Natl. Acad. of Science Colloq. on Links Between Recombination and Replication: Vital Roles of Recombination, Irvine, USA, Nov. (2000).
- Ohta K., Murakami H., Malkova A., Haber J. E., Thesis J. F., Newlon C., Smith K., Nicolas A., Borde V., Lichten M., and Shibata T.: "Replication and recombination: A chromatin aspect", Natl. Acad. of Science Colloq. on Links Between Recombination and Replication: Vital Roles of Recombination, Irvine, USA, Nov. (2000).
- Mikawa T., Ito Y., Hachimori Y., Saito M., Honda M., Kohno T., and Shibata T.: "Analysis of DNA binding sites on RecA protein using multidimensional NMR", 42nd Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conf., Orland, USA, Mar. (2001).
- Rajesh S., Sakamoto T., Sugai M., Shibata T., Kohno T., and Ito Y.: "Structural basis for ubiquitin binding by yeast ubiquitin hydrolase 1 (YUH1): Insights from NMR studies on YUH1 and YUH1-Ub complex", 42nd Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conf., Orland, USA, Mar. (2001).
- Ohta K., Furuse M., Ohsaki S., Murakami-Murofushi K., and Shibata T.: "Mre11 and recombination repair in yeast cells", Int. Workshop on Radiation Damage 2001: Repair, Mutagenesis and Visualization, Tokyo, Mar. (2001).
- (国内会議)
- 胡桃坂仁志, 相原秀樹, 香川亘, 柴田武彦, 横山茂之: "ヒト Rad51-N 末端ドメインの高次構造と Rad52 結合領域の解析", 第 37 回日本生物物理学会年会, 和光, 10 月 (1999).
- 香川亘, 胡桃坂仁志, 柴田武彦, 横山茂之: "ヒト Rad52 タンパク質の機能領域の解析", 第 37 回日本生物物理学会年会, 和光, 10 月 (1999).
- 胡桃坂仁志, 井川肅子, 香川亘, 柴田武彦, 横山茂之: "ヒトの DNA 修復に関わる Xrcc2, Xrcc3, Rad51C, HsRad51 の生化学的解析", 第 72 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (1999).
- 胡桃坂仁志, 井川肅子, 香川亘, 柴田武彦, 横山茂之: "DNA 修復に関わるヒト Xrcc3 の複合体形成と DNA 組換え活性", 第 22 回日本分子生物学会年会ワークショップ「DNA 修復研究の最前線」, 福岡, 12 月 (1999).
- 美川務, 伊藤隆, 八森由貴子, 齋藤雅子, 河野俊之, 柴田武彦: "RecA 蛋白質の N 末端ドメインの機能解析", 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 1 月 (2000).
- 伊藤隆, 相原秀樹, 美川務, 横山茂之, 柴田武彦, 美川務: "大腸菌 DinI の高次構造と RecA との相互作用", 平成 12 年度日本分光学会春期講演会, 東京, 5 月 (2000).
- 柴田武彦: "遺伝子組換えに働く分子構造とその機能", 第 5 回構造生物学シンポジウム, 八王子, 6 月 (2000).
- 柴田武彦: "ゲノムはなぜ DNA なのか: 相同的 DNA 組換えに働く分子の形と機能の研究から", 第 188 回 DNA 研究会, 東京, 7 月 (2000).
- 小森博文, 辻内宏, 増井良治, 倉光成紀, 横山茂之, 柴田武彦, 井上頼直, 三木邦夫: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* 由来, 光回復酵素の結晶構造解析", 第 38 回日本生物物理学会年会, 仙台, 9 月 (2000).
- 太田邦史, 水野健一, 古瀬宗則, 山田貴富, 長谷見倫子, 瀬尾秀宗, 生方寿治, 村上創, 大崎志真, 柴田武彦: "染色体相同組換えの制御システム", 第 53 回日本細胞生物学会大会, 横浜, 10 月 (2000).
- 太田邦史, 大崎志真, 古瀬宗則, 室伏きみ子, 柴田武彦: "組換え開始因子 Mre11 の過剰発現によるドミナントネガティブ効果", 第 53 回日本細胞生物学会大会, 福岡, 10 月 (2000).
- 美川務, 柴田武彦: "RecA, Rad51 蛋白質の DNA 組換え反応での分子認識機構", 第 73 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (2000).

- 川崎勝己, Nguyen Q. D., 柴田武彦: “ショウジョウバエ初期胚での RECQE タンパクの役割”, 第 73 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (2000).
- 胡桃坂仁志, 香川亘, 田中真希, 柴田武彦, 横山茂之: “ヒト Rad51 相互作用因子, HsRad52 および Xrcc3 の機能解析”, 第 73 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (2000).
- 森島信裕: “小胞体特異的アポトーシスに関与するカスパーゼ 12”, 第 73 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月 (2000).
- 伊藤隆, 柴田武彦: “高効率な NMR タンパク質構造決定法の模索”, 2000 年度食品栄養科学部若手研究者の会シンポジウム「ポストゲノム時代におけるバイオサイエンス」, 静岡, 11 月 (2000).
- Rajesh S., 坂本泰一, 田中剛史, 須貝真理子, 小寺義男, 柴田武彦, 河野俊之, 伊藤隆: “Interaction of yeast ubiquitin hydrolase with ubiquitin: An NMR study of the 35kDa covalent complex”, 第 39 回 NMR 討論会, 東京, 11 月 (2000).
- 美川務, 伊藤隆, 八森由貴子, 齋藤雅子, 柴田武彦: “RecA の DNA 結合部位の解析”, 第 39 回 NMR 討論会, 東京, 11 月 (2000).
- 相原秀樹, 伊藤隆, 美川務, 横山茂之, 柴田武彦: “大腸菌 DinI の高次構造と RecA との相互作用”, 第 39 回 NMR 討論会, 東京, 11 月 (2000).
- 伊藤隆: “相同組換え系の構造生物学的解析”, 理研シンポジウム「MR サイエンス 2000」, 和光, 11 月 (2000).
- 胡桃坂仁志, 井川肅子, 香川亘, 江田慶子, 田中真希, 榎本りま, 柴田武彦, 横山茂之: “DNA 組換え修復に働く Xrcc3・Rad51C 複合体の機能解析”, 第 14 回ワークショップ「遺伝的組換えとその制御」, 神戸, 12 月 (2000).
- 本多賢吉, 西田幸治, 美川務, 伊藤隆, Waelchli M., 柴田武彦: “¹H/¹⁹F-NMR を用いた RecA 蛋白質と DNA との相互作用の解析”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 長谷見倫子, 水野健一, 飯野雄一, 渡辺嘉典, 山本正幸, Fox M. E., Smith G. R., Wahls W. P., 太田邦史, 柴田武彦: “M26 組換えホットスポットにおける 2 種のクロマチン再編成”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 柴田武彦, 美川務, 西中太郎, 相原秀樹, 胡桃坂仁志, 横山茂之, 伊藤隆: “Molecular structure for heteroduplex joint-formation by RecA/Rad51 family proteins”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 八森由貴子, 美川務, 伊藤隆, 高杉憲司, 柴田武彦: “Mre11 蛋白質の DNA 結合様式の解析”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 森島信裕: “アポトーシス初期課程におけるカスパーゼ-8 の活性化とビメンチン切断”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 川崎勝己, 中山実, 丸山沙弥子, 松本幸次, 柴田武彦: “ショウジョウバエ DNA ヘリカーゼ RECQE の反応機構”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 胡桃坂仁志, 田中真希, 香川亘, 榎本りま, 柴田武彦, 横山茂之: “ヒト Rad52 family の脳における複合体形成と DNA 組換え活性”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 香川亘, 胡桃坂仁志, 柴田武彦, 横山茂之: “ヒト Rad52 タンパク質の N 末端ドメインの DNA 組換え活性”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 胡桃坂仁志, 中田真希, 香川亘, 榎本りま, 柴田武彦, 横山茂之: “ヒト Rad51 family の脳における複合体形成と DNA 組換え活性”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 千本木裕, 三橋登, 三木隆司, 凌楓, 清野進, 柴田武彦: “ミトコンドリア呼吸能の消失を引き起こす酵母 atm1-1 変異とそのヒトオースログ MTABC3”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 水野健一, 長谷見倫子, 生方寿治, 渡辺嘉典, 飯野雄一, 山本正幸, Kohli J., 柴田武彦, 太田邦史: “減数分裂期のシグナルによる M26 組換え頻発部位のクロマチン再編成制御”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 太田邦史, Lichten M., 柴田武彦: “減数分裂期相同組換えによるゲノム維持・防御の仕組み”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 古瀬宗則, 柴田武彦, 太田邦史: “減数分裂時の二重鎖切断関連因子と Mre11 の関連性”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 瀬尾秀宗, 武田俊一, 室伏擴, 柴田武彦, 太田邦史: “抗体軽鎖遺伝子のアルル間活性調節におけるクロマチン構造の機能”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 村上創, Theis J. E., Schaefer C., Newlon C., Malkova A., Haber J. E., 柴田武彦, 太田邦史: “出芽酵母 ARS310 複製開始点のクロマチン構造と減数分裂期組換え”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 太田邦史, Smith K., Nicolas A., Borde V., Lichten M., 柴田武彦: “出芽酵母における組換え開始反応と減数分裂期 DNA 合成の関係”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 中西慶子, 丸山真澄, 須藤龍彦, 柴田武彦, 森島信裕: “発生過程の細胞死におけるカスパーゼ 8 の関与”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 水村光, 柴田武彦, 森島信裕: “部位特異的から普遍的な組換え開始酵素への進化”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 山田貴富, 水野健一, 室伏擴, 柴田武彦, 太田邦史: “分裂酵母の減数分裂期組換えに伴うクロマチン再編成とヒストンアセチル化”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 田島夏織, 白水美香子, 井上みお, 矢吹孝, 木川隆則, 柴田武彦, 井上頼直, 倉光成紀, 横山茂之: “無細胞系による高度好熱菌 *T. th* HB8 タンパク質の発現”, 第 23 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2000).
- 胡桃坂仁志, 柴田武彦, 横山茂之: “DNA 組換え修復に働く Xrcc3・Rad51C 複合体の機能解析”, 第 23 回日本分子生物学会年会サテライトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2000).
- 柴田武彦, 美川務, 西中太郎, 相原秀樹, 胡桃坂仁志, 横山茂之, 伊藤隆: “RecA/Rad51 蛋白による相同的組換え中間体, ヘテロ二本鎖形成における構造の生物学”, 第 23 回日本分子生物学会年会サテライトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2000).

川崎勝己, 中山実, 丸山沙弥子, 松本幸次, 柴田武彦: “RECQE DNA ヘリカーゼの反応機構とショウジョウバエ細胞での役割”, 第 23 回日本分子生物学会年会サテライトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2000).

白水美香子, 胡桃坂仁志, 木川隆則, 河口真一, Vassilyev D. G., 井上頼直, 柴田武彦, 倉光成紀, 横山茂之: “機能解析と立体構造解析”, 第 23 回日本分子生物学会年会サテライトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2000).

太田邦史, Smith K., Nicolas A., Borde V., Lichten M., 柴田武彦: “出芽酵母における組換え開始反応と減数分裂期 DNA 合成の関係”, 第 23 回日本分子生物学会年会サテライトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2000).

水野健一, Wahls W. P., 長谷見倫子, 生方寿治, 渡辺嘉典, 飯野雄一, 山本正幸, Fox M. E., Smith G. R., Kohli J., 柴田武彦, 太田邦史: “分裂酵母 M26 組換え頻発部位におけるクロマチン再編成の制御”, 第 23 回日本分子生物学会年会サテライトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2000).

森島信裕: “アポトーシス-個体の生存に貢献する細胞破壊のしくみ”, 第 2 回むさしのサイエンス&テクノロジーフォーラム, (埼玉県労働商工部工業振興課), 川崎, 12 月 (2000).

太田邦史, 大崎志真, 白髭克彦, 吉川寛, 柴田武彦: “Mre11 の減数分裂期転写制御における機能: DNA チップによる解析”, 第 18 回染色体ワークショップ, 葉山, 1 月 (2001).

水野健一, 長谷見倫子, 生方寿治, Wahls W. P., 渡辺嘉典, 飯野雄一, 山本正幸, Fox M. E., Smith G., Kohli J., 柴田武彦, 太田邦史: “減数分裂シグナル伝達による組換え頻発部位のクロマチン制御”, 第 18 回染色体ワークショップ, 葉山, 1 月 (2001).

村上創, Theis J. F., Schaefer C., Newlon C., Malkova A., Haber J. E., 柴田武彦, 太田邦史: “出芽酵母 ARS310 複製開始点改変によるクロマチン構造と減数分裂組織組換えへの影響”, 第 18 回染色体ワークショップ, 葉山, 1 月 (2001).

柴田武彦, 美川務, 井川肅子, 胡桃坂仁志, 横山茂之, 伊藤隆: “染色体組換えにおける RecA/Rad51 属蛋白活性の調節機構”, 第 18 回染色体ワークショップ, 葉山, 1 月 (2001).

Rajesh S., 坂本泰一, 田中剛史, 須貝真理子, 小寺義男, 柴田武彦, 河野俊之, 伊藤隆: “Interaction of yeast ubiquitin hydrolase with ubiquitin: An NMR study of the 35 kDa covalent complex (poster session)”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

美川務, 伊藤隆, 八森由貴子, 齋藤雅子, 柴田武彦: “RecA の DNA 結合部位の解析”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

香川亘, 胡桃坂仁志, 柴田武彦, 横山茂之: “ヒト Rad52 タンパク質の X 線結晶構造解析”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

小林慎一郎, 野嶽勇一, 本島浩之, 石嶋潤, 増井良治, 中川紀子, 柴田武彦, 井上頼直, 横山茂之, 倉光成紀: “高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 量産化タンパク質の効率的精製系の構築”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

桂康洋, 白水美香子, 濡木理, 井上みお, 柴田武彦, 井上頼直, 倉光成紀, 横山茂之: “高度好熱菌 *Thermus ther-*

mophilus HB8 アミノトランスフェラーゼの X 線結晶構造解析”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

井上真, 木川隆則, 白水美香子, 立田由里子, 井上みお, 河口真一, 柴田武彦, 井上頼直, 倉光成紀, 横山茂之: “高度好熱菌機能未知タンパク質 258 の溶液構造”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

柴田武彦, 西中太郎, 美川務, 相原秀樹, 胡桃坂仁志, 横山茂之, 伊藤隆: “相同的 DNA 組換え研究における構造の生物学”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

相原秀樹, 伊藤隆, 美川務, 横山茂之, 柴田武彦: “大腸菌 DinI の高次構造と RecA との相互作用”, 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

胡桃坂仁志, 白水美香子, 榎本りま, 木川隆則, Vassilyev D. G., 井上頼直, 柴田武彦, 倉光成紀, 横山茂之: “高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 の網羅的タンパク質間相互作用解析系の構築”, 第 3 回ワークショップ「微生物ゲノム研究のフロンティア」, (文部省科研費補助金特定領域研究 (C)「統合ゲノム」), 木更津, 2 月 (2001).

伊藤隆: “NMR による構造計算の現状と展望”, 第 14 回 NMR ワークショップ「よこはま NMR 構造生物学会研究会」, 横浜, 3 月 (2001).

Rajesh S.: “最近の NMR 方法論的研究”, 第 14 回 NMR ワークショップ「よこはま NMR 構造生物学会研究会」, 横浜, 3 月 (2001).

Research Subjects and Members of Cellular & Molecular Biology Laboratory

1. Molecular Biology of the Initiation of Eukaryotic Homologous Recombination and New NMR Techniques for the Structural Analysis of Biomacromolecular Interactions
2. Genome Stability and Regulation of Recombination in Multicellular Organisms
3. Biological Functions of Genetic Recombination in Mitochondria
4. Molecular Biology of Apoptosis

Head

Dr. Takehiko SHIBATA

Members

Mr. Masao CHIJIMATSU
Dr. Shukuko IKAWA
Dr. Katsumi KAWASAKI
Dr. Nobuhiro MORISHIMA
Dr. Feng LING
Dr. Yutaka ITO
Dr. Tsutomu MIKAWA
Dr. Hikaru MIZUMURA^{*1}
Dr. Hiroshi SENBONGI^{*1}

Dr. Kenji TAKASUGI^{*1}
Dr. Sundaresan RAJESH^{*2}

^{*1} Special Postdoctoral Researcher

^{*2} Contract Researcher

Visiting Members

Ms. Satoko ISHIBE (CREST, JST)

Ms. Tomomi SATO (CREST, JST)

Mr. Masatoshi YOSHIMASU

Trainees

Ms. Yukiko HACHIMORI (Grad. Sch. Sci., Jpn.
Women's Univ.)

Mr. Masayoshi HONDA (Grad. Sch. Sci. Eng., Saitama
Univ.)

Ms. Kaori KURASHIMA (Fac. Sci., Jpn. Women's
Univ.)

Ms. Sayako MARUYAMA (Sch. Life Sci., Tokyo Univ.
Pharm. Life Sci.)

Ms. Keiko NAKANISHI (Grad. Sch. Sci. Eng., Saitama
Univ.)

Mr. Minoru NAKAYAMA (Fac. Sci., Saitama Univ.)

Ms. Masako SAITO (Grad. Sch. Sci., Gakushuin Univ.)

Ms. Emiko SEIWA (Coll. Bioresource Sci., Nihon. Univ.)

Ms. Yukie TAKANO (Grad. Sch. Sci. Eng., Saitama
Univ.)