

## 損傷修復分野

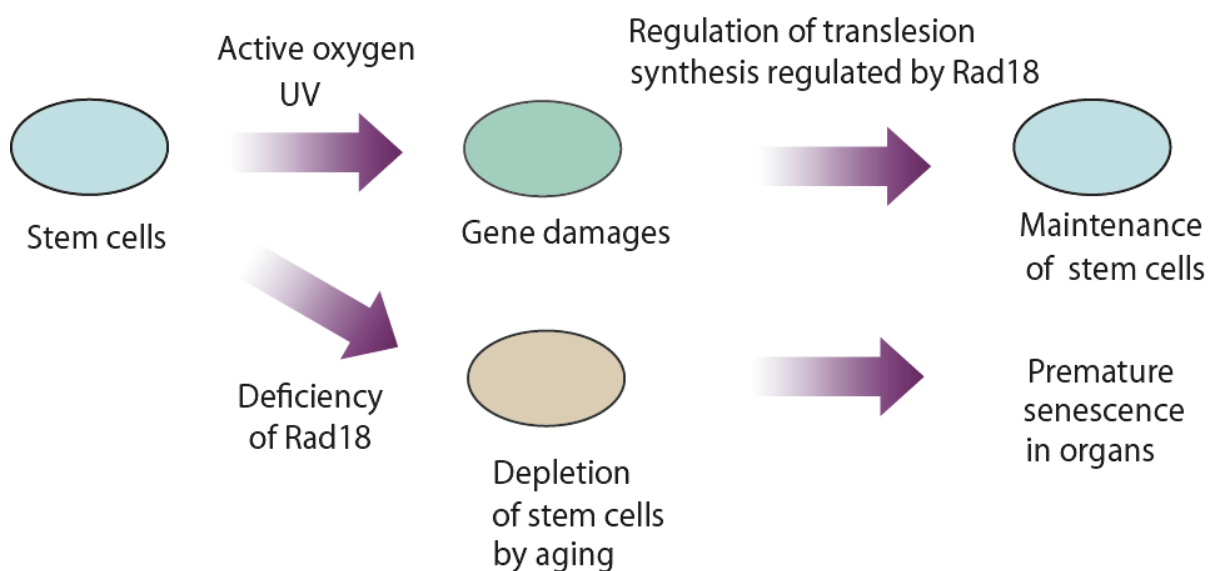
## Department of Cell Maintenance

通常の複製酵素は、DNA の損傷部位で停止してしまう。ユビキチンライゲースである Rad18 は、PCNA をユビキチン化することを介して、損傷乗越え複製酵素  $\eta$  をリクルートすることにより、損傷乗越え複製を促進する。Rad18 を欠損する雄マウス精巣内の生殖細胞が加齢により枯渇するため、Rad18 は生殖幹細胞の維持に必要であることが示唆された。損傷修復分野では、Rad18 によるゲノム安定性の維持機構に焦点を絞り、細胞老化誘導の阻止機構を解明している。

Replicative polymerases stall at damaged template DNA, which hamper cell proliferation. To circumvent the crisis, ubiquitin ligase Rad18 mono-ubiquitinates PCNA to promote translesion synthesis via recruiting polymerase  $\eta$ . Male germ cells in *Rad18* knockout mice degenerated gradually by aging, suggesting requirement of Rad18 for long-term maintenance of spermatogonial stem cells. We are investigating the role of Rad18 for genome integrity and prevention of cellular senescence.

Rad18 による、生殖幹細胞の維持機構のモデル

### Model for maintenance of stem cells by Rad18

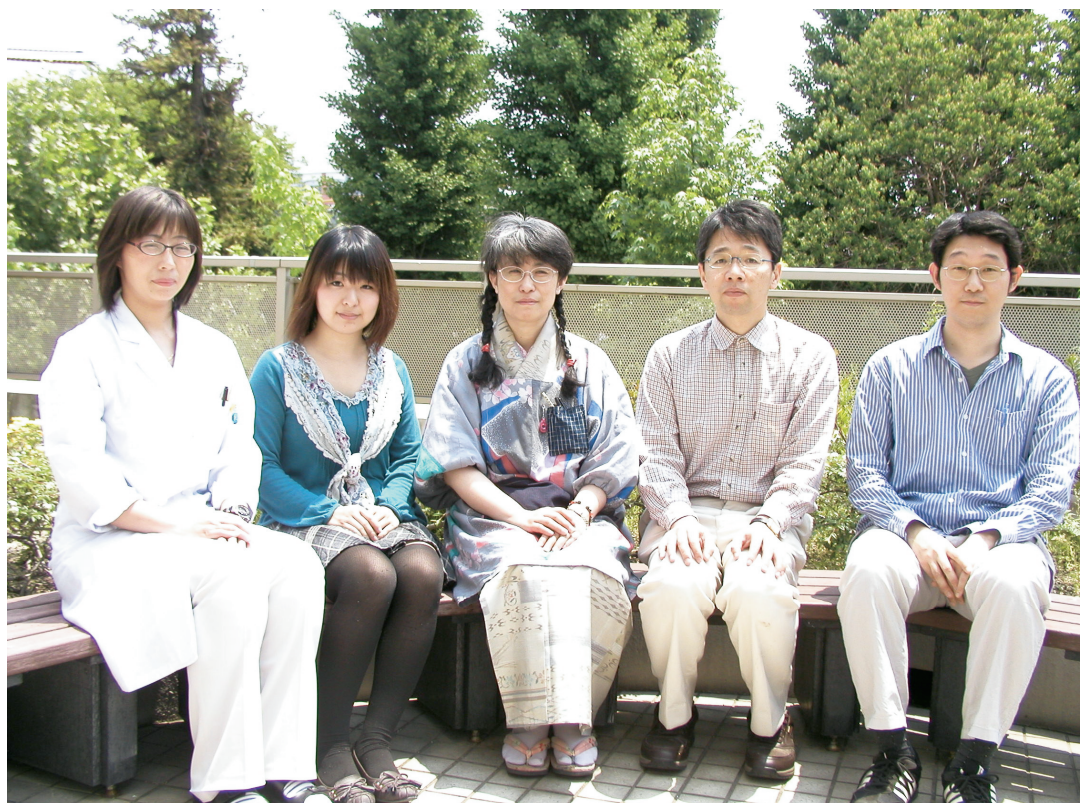


## 構成員 Staff (2012.3)

名前	職名	Name and Position
立石 智	講師	Satoshi Tateishi, Senior Assistant Professor
立石 千絵	技術支援員	Chie Tateishi, Technical Assistant
河津 好江	技術支援員	Yoshie Kawazu, Technical Assistant

## 元在籍者 Staff in the past (2008.4～2012.3)

名前	Name	在籍期間	在籍時職名	転出先
渡邊 健司	Kenji Watanabe	2005. 4. 1 -2009. 10.31	助手	デンマーク癌研究所
孫 じんか	Jinghua Sun	2005. 4. 1 -2009. 3.31	大学院生	大連医科大学
上木原 良	Ryo Kamikihara	2009. 4. 1 -2011. 3.31	大学院生	美萩野臨床医学専門学校
江藤 瑞菜	Mizuna Eto	2009. 6. 1 -2011. 3.31	大学院生	美萩野臨床医学専門学校
仲波 昂介	Kousuke Nakanami	2009. 9. 1 -2011. 3.31	大学院生	ドギーマンハヤシ株式会社



河津

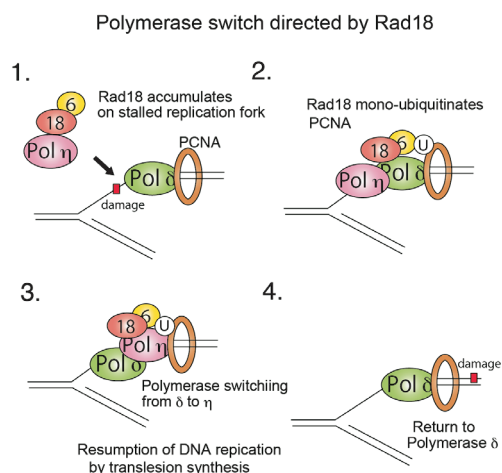
田上

立石千絵

立石智

高森

遺伝物質である DNA は、活性酸素などの内在的な要因、紫外線の照射などの外因性の要因により、常に傷害を受けている。DNA 傷害は、通常 DNA が複製される前に、除去修復機構などにより修復されるが、修復されにくい傷害も数多く発生するため、損傷が鋳型 DNA 鎖上に残存する。通常の DNA 複製酵素は損傷部位を乗越えて複製できないため、DNA 複製フォークが停止し細胞増殖が阻害される。この危機的な状態を回避するため、傷害が残っていても DNA 鎖の複製を継続させる機構が存在する。この機構は損傷トレランス(DDT)と呼ばれ、大腸菌からヒトまで保存されている重要な機構である。損傷乗り越え複製(TLS)は DDT の主要な機構である。大阪大学の花岡・益谷らにより発見されたポリメラーゼ  $\eta$  は、UV 照射により形成された傷害を乗越えて DNA 複製を行う複製酵素である。我々が発見したヒト Rad18 タンパクは、PCNA をモノユビキチン化するユビキチンライゲースである。DNA 複製の停止により活性化された Rad18 はポリメラーゼ  $\eta$  を伴って DNA 複製部位まで移動し、ポリメラーゼ  $\eta$  を複製部位に誘導する。次に Rad18 により PCNA がモノユビキチン化されると、ポリメラーゼ  $\delta$  のかわりにポリメラーゼ  $\eta$  が複製の場にリクルートされ、損傷乗り越え複製が開始される。



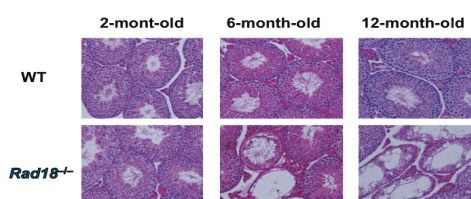
## 1. RAD18 および複製酵素 $\eta$ が停止した複製部位へ集積する機構の解明

RAD18 およびポリメラーゼ  $\eta$  がどのようにして、停止した複製部位へ集積するのか検討するため、ヒト RAD18 タンパクの DNA 結合特性を調べた。その結果、ヒト RAD18 タンパクは 2 本鎖 DNA には結合しないが、RPA が結合した単鎖 DNA に効率良く結合することがわかった。RAD18 タンパクと RPA タンパクは、単鎖 DNA に対して協調的に結合した。また、RAD18 タンパクは、フォーク状の 2 本鎖 DNA にも効率良く結合することがわかった。次に RAD18 タンパクのどの領域が、この DNA 結合に関与しているか調べた結果、SAP ドメインが、フォーク状の 2 本鎖 DNA への結合と PCNA のモノユビキチン化反応の両方に関与していることがわかった。SAP ドメインを欠失した RAD18 は、紫外線感受性を回復させる能力も欠失していた。以上の結果から、RAD18 は、RPA タンパクが結合した単鎖 DNA を含むフォーク状の DNA に対して特異的に結合することを介して、停止した複製フォークに集積すると結論した (文献 3)。

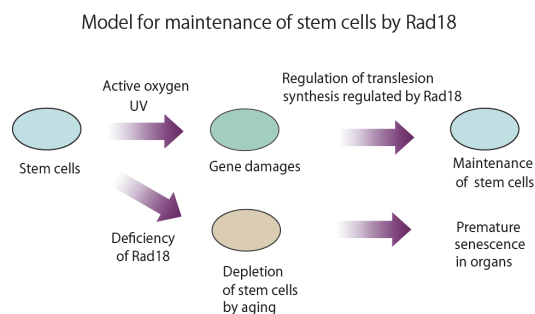
## 2. RAD18 は長期にわたる精子形成の維持に必要である。

雄の RAD18 欠損マウスは、加齢に伴い生殖能力が低下した。この原因をさぐるため、月齢の異なる RAD18 欠損マウスの精巣を採取し、その組織像を観察した。加齢に伴い、精巣の重量が著しく減少していた。また、精細管を構成する生殖細胞が加齢とともに欠落してゆくことがわかった。

Progressive degeneration of testicular germ cells in Rad18<sup>-/-</sup> mice by aging



精原細胞のみが失われた精細管が多くみられたことから、加齢に伴い精子幹細胞が存在する精原細胞が最初に枯渇することが示唆された。増殖が活発な生殖細胞などで幹細胞を長期にわたり維持するために、RAD18 による TLS の制御が役割を果たしていると考えられる(文献 6)。

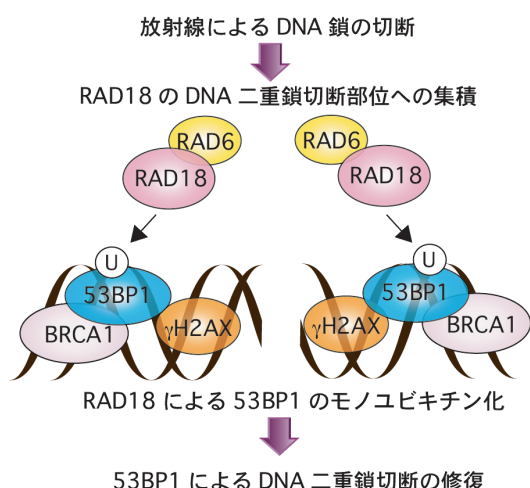


### 3. *Chk2*・*Rad18* 遺伝子欠損マウス細胞での細胞老化の発現

*Rad18* 欠損マウスは、加齢に伴い精巣の生殖細胞が枯渇する表現型がみられたため、*Rad18* は幹細胞の細胞老化を防ぐ役割がある可能性がある。これを検証するため、*Rad18* 欠損マウスを種々の遺伝子改変マウスとかけ合わせて得られた繊維芽細胞で細胞老化がみられるかテストするプロジェクトを行っている。*Chk2* 遺伝子は、細胞周期制御に関与している癌抑制遺伝子である。ヨーロッパの人口の約 0.5%にこの遺伝子の変異がみられ、発癌リスクが約 3 倍上昇することが知られている。*Chk2*・*Rad18* 2 重欠損マウスを作成し、MEF(マウス繊維芽細胞)を調製した。*Chk2*<sup>-/-</sup>*Rad18*<sup>-/-</sup> MEF は、しばらく増殖してから一部の細胞が細胞老化をおこして増殖が遅くなることがわかった。*Chk2*<sup>-/-</sup>*Rad18*<sup>-/-</sup> MEF は、核内で強い RPA 染色がみられたことから、RPA で覆われた 1 本鎖 DNA 領域が露出していることが示された。また、p53 および p21 および老化マーカーである p16 タンパクが強く発現していた。このため、*Chk2* および *Rad18* 遺伝子を欠損することにより、RPA で覆われた 1 本鎖 DNA 領域が露出し、おそらく ATM/ATR 経路の活性化を介して細胞老化が誘導されるのではないかと考えられる。*Chk2* および *Rad18* 遺伝子は、協調して RPA で覆われた 1 本鎖 DNA 領域が出現

することを防ぐことにより、細胞老化の誘導を阻止していると考えられる。複数の遺伝子を欠損することにより細胞老化が誘導される現象を発見したので、これを「合成老化」(synthetic senescence)と名付けた。

4. *Rad18* は 53BP1 をモノユビキチン化することを介して、DNA2 重鎖切断損傷の修復を促進する。X 線照射などにより、DNA2 重鎖が切断される。DNA2 重鎖切断損傷は、XRCC4/LigaseIV などによる非相同末端再結合(NHEJ)または RAD51 などによる組換え機構により修復される。前者は細胞周期が G1 期で、後者は G2/M 期で機能する。我々は、*RAD18* が DNA2 重鎖切断部位にも集積することを明らかにした。DNA2 重鎖切断部位にはリン酸化ヒストン H2AX、Nbs1、Brca1、53BP1 などのタンパクが集積することが知られており、*RAD18* と共に局在することがわかった。*RAD18* が G1 期で DNA2 重鎖切断部位に集積するには、53BP1 が必要であることがわかった。精製した *RAD18* は In vitro で 53BP1 タンパクの 1268 番目のリジン残基をモノユビキチン化する活性を示した。このアミノ酸を変異させた 53BP1 は、DNA2 重鎖切断部位への集積能力が著しく低下しており、また FRAP 解析の結果、DNA2 重鎖切断部位での安定性が大きく低下していた。53BP1 をモノユビキチン化できない変異 *RAD18* を発現する細胞は、G1 期での X 線に対する感受性がみられた。このため、DNA2 重鎖切断部位のヒストン H2AX に付加されたポリユビキチン鎖に結合した *RAD18* は、53BP1 をモノユビキチン化することにより 53BP1 の DNA2 重鎖切断部位での安定性を増加することにより、53BP1 による非相同末端結合(NHEJ)機構により DNA2 重鎖切断損傷を修復するモデルを提唱した(文献 7)。



## 5. 簡易な光線過敏症の細胞診断法の開発

光線過敏症には、色素性乾皮症(XP)、色素性乾皮症バリエーション(XPv)、コケイン症候群(CS)が含まれる。これらの疾患の診断は、臨床所見と細胞診断の結果から決定されるが、従来の細胞診断方法はアイソトープを用いる培養細胞のオートラジオグラフィーを使用するため、難易度が高い。特にコケイン症候群は全国でも数少ない機関で細胞診断されており、細胞診断されていないケースが多い。このため、XP、XPv および CS を簡易に診断できる方法の開発が重要である。我々は、オートラジオグラフィーを使用せずに系統的に細胞診断する方法を開発した。(文献 5 および未発表データ)。

## 6. 既存の光線過敏症に属さない、皮膚癌を併発する疾患の同定

日光露光部位に皮膚癌を多発する患者から繊維芽細胞を樹立し、新規の疾患であることを見つけた。繊維芽細胞を細胞診断した結果、既存の光線過敏症である色素性乾皮症またはコケイン症候群ではないが、紫外線照射に伴う DNA 修復効率の低下がみられたことから、新規の疾患であると結論した(文献 1)。

extrinsic sources including UV light irradiation. If these DNA damages are not repaired, accumulation of the DNA damages cause cellular death or carcinogenesis. Most DNA lesions are removed prior to DNA replication by the nucleotide excision repair and base excision repair pathways. However, those repair pathways are not always efficient to repair the DNA lesions. Therefore, unrepaired lesions encountered by the DNA replication machinery on template strand DNA during S-phase causing replication fork stalling. Cell death may occur unless DNA synthesis resumes at stalled replication forks. This resumption process is defined as DNA damage tolerance (DDT), and is characterized by re-initiation of DNA replication without removal of the lesion on a template strand. DDT is observed in diverse species from *E. coli* to humans and is hypothesized to involve three major steps: translesion DNA synthesis (TLS), recombination and template switching. The term, DDT has been used interchangeably with post-replication repair (PRR) or DNA damage avoidance. In the budding yeast *S. cerevisiae*, genes belonging to the *Rad6* epistasis group are involved in the DDT pathway, where *Rad6* and *Rad18* (coding for ubiquitin-conjugating enzyme E2 and ubiquitin ligase E3, respectively) play a pivotal role. In vertebrate cells, we have identified a homologue of *Rad18*, while two homologues of *Rad6* were identified (designated *Rad6A* and *Rad6B*). PCNA was shown to be mono-ubiquitinated in a *Rad6/Rad18* dependent manner, which is necessary for DDT. In mammalian cells, TLS polymerases operate to circumvent replication blocks. Among TLS polymerases mostly belonging to the Y-family, polymerase  $\eta$  (*Polη*) is of great interest because the gene encoding *Polη* is mutated in a cancer-prone hereditary disorder, xeroderma pigmentosum variant (XPV).

We and other researchers have revealed that *Polη* is thought to replace replicative polymerase  $\delta$  at stalled replication forks through interactions with *Rad18* and mono-ubiquitinated PCNA. We have proposed the model how *Rad18* guide *Polη* to stalled replication sites and promote replacement of replicative polymerase by TLS polymerase. In UV-irradiated human cells, *Polη* and *Rad18* are recruited to nuclear foci in a UV-dose and time dependent manner. *Polη/Rad18* foci are colocalized with PCNA, suggesting that these are sites of stalled replication. A mutant *Polη* devoid of focus-forming activity cannot complement the XPV defect, demonstrating the importance of *Polη/Rad18* recruitment to stalled replication forks for initiation

Recruitment of *Rad6-Rad18-Polη* complex to stalled replication fork.  
Cellular DNA is continually damaged by intrinsic sources including reactive oxygen species and

of translesion synthesis. Despite the importance of Pol $\eta$  and Rad18, the molecular mechanism by which they are recruited to stalled replication forks are not well understood.

#### 1. Recognition of forked and single-stranded DNA structures by human Rad18 complexed with Rad6B protein triggers its recruitment to stalled replication forks

We present evidence that human Rad18 complexed with Rad6B protein preferentially binds to forked and single-stranded DNA (ssDNA) structures, which are known to be localized at stalled replication forks. The SAP domain of Rad18 (residues 248–282) is crucial for binding of Rad18 complexed with Rad6B to DNA substrates. Rad18 mutated in the SAP domain fails to accumulate at DNA damage sites *in vivo* and does not guide DNA Pol  $\eta$  to stalled replication forks. The SAP domain is also required for the efficient mono-ubiquitination of PCNA. The SAP domain mutant fails to suppress the ultraviolet (UV)-sensitivity of *Rad18*-knockout cells. These results suggest that Rad18 complexed with Rad6B is recruited to stalled replication forks via interactions with forked DNA or long ssDNA structures, a process that is required for initiating DDT (**Ref. 3**).

#### 2. Rad18 is required for long-term maintenance of spermatogenesis in mouse testes

Mammalian Rad18 is highly expressed in the spermatocytes and the nuclei of a few spermatogonia in adult mice. To elucidate the physiological function of Rad18, we analyzed a phenotype of *Rad18*<sup>-/-</sup> mice. The mice were born and appeared to grow normally. Although the mice were fertile, fertility and testis weight decreased with age. Histological examination revealed normal spermatogenesis in almost all seminiferous tubules in *Rad18*<sup>-/-</sup> testes at 2 months old, and abnormal sperm could not be detected in the epididymis. However, 25% of the tubules lost almost all germ cells at 12 months. The seminiferous tubules frequently retained only late differentiated phase germ cells, suggesting that the exhaustion of spermatogonial stem cells leads to the loss of all germ cells in the seminiferous tubules. Wild-type germ cells were successfully transplanted into and colonized in the seminiferous tubules of aged *Rad18*<sup>-/-</sup> mice, indicating that Sertoli cells have a normal supportive function even in aged testes. We conclude that Rad18 is intrinsically required for the long-term maintenance of spermatogenesis (**Ref. 6**).

#### 3. Loss of *Rad18* and *Chk2* elicits cellular senescence via formation of RPA-coated single-stranded DNA regions

Rad18 is required for long-term maintenance of male germ cells in mouse testes, raising possibility that Rad18 play a role to prevent cellular senescence in germ stem cells. To test this, we stated the projects to prepare double knockout mice by mating *Rad18*<sup>-/-</sup> mice with other knockout mice and examine whether cellular senescence occur in the MEFs derived from the double-knockout mice. *Chk2* is a tumor suppressor gene and encode protein kinase to repress cell cycle progression in response to DNA damages. We have made *Chk2*<sup>-/-</sup>*Rad18*<sup>-/-</sup> mice by mating *Rad18*<sup>-/-</sup> mice with *Chk2*<sup>-/-</sup> mice. Unexpectedly *Chk2*<sup>-/-</sup>*Rad18*<sup>-/-</sup> MEFs displayed cellular senescence-like features. The *Chk2*<sup>-/-</sup>*Rad18*<sup>-/-</sup> MEFs grew slower than WT MEFs and were positive for senescence-associated B-galactosidase staining. *Chk2*<sup>-/-</sup>*Rad18*<sup>-/-</sup> MEFs displayed high amount of RPA foci in nuclei and high expression levels of p16, p53 and p21 protein compared to WT, *Chk2*<sup>-/-</sup> or *Rad18*<sup>-/-</sup> MEFs, suggesting that Rad18 and *Chk2* contribute to prevent exposure of RPA-coated ssDNA regions and induction of cellular senescence in concerted manner.

#### 4. Rad18 promotes DNA double-strand break repair during G1 phase through chromatin retention of 53BP1

Recruitment of Rad18 to stalled replication forks facilitates monoubiquitination of PCNA during S-phase, promoting translesion synthesis at sites of UV irradiation-induced DNA damage. In this study, we show that Rad18 is also recruited to ionizing radiation (IR)-induced sites of DNA double-strand breaks (DSBs) forming foci which are co-localized with 53BP1, NBS1, phosphorylated ATM, BRCA1 and  $\gamma$ -H2AX. Rad18 associates with 53BP1 and is recruited to DSB sites in a 53BP1-dependent manner specifically during G1-phase, Rad18 monoubiquitinates KBD domain of 53BP1 at lysine 1268 *in vitro*. A monoubiquitination-resistant 53BP1 mutant harboring a substitution at lysine 1268 is not retained efficiently at the chromatin in the vicinity of DSBs. In *Rad18*-null cells, retention of 53BP1 foci, efficiency of DSB repair and post-irradiation viability are impaired compared with wild-type cells. Taken together, these results suggest that Rad18 promotes 53BP1-directed DSB repair by enhancing retention of 53BP1, possibly through an interaction between Rad18 and 53BP1 and the modification of 53BP1 (**Ref. 7**).

#### 5. A New Disorder in UV-Induced Skin Cancer with Defective DNA Repair Distinct from Xeroderma Pigmentosum or Cockayne Syndrome

We report the characterization of a Japanese woman who exhibited many freckles and skin cancers in sun-exposed areas, but displayed no photosensitivity. Fibroblasts (KPSX7) derived from this patient showed similar UV sensitivity to that of normal human fibroblasts. The KPSX7 cells showed normal levels of unscheduled DNA synthesis, recovery of RNA synthesis, recovery of replicative DNA synthesis, protein-binding ability to UV-damaged DNA, and post-translational modification of xeroderma pigmentosum (XP) C. These results indicate that the patient had neither XP nor Cockayne syndrome. Although these results suggest that the KPSX7 cells were proficient in nucleotide excision repair activity, host-cell reactivation (HCR) activity of KPSX7 cells was reduced. Furthermore, introduction of UV damage endonuclease into the cells restored repair activity in the HCR assay to almost normal levels. These results indicate that KPSX7 cells are defective for some types of repair activity in UV-damaged DNA. In summary, the patient had a previously unknown disorder related to UV-induced carcinogenesis, with defective DNA repair (**Ref. 5**).

comprise an easy way to diagnose XP and CS (**Ref. 1**).

#### 6. Non-radioisotope method for diagnosing photosensitive genodermatoses and a new marker for xeroderma pigmentosum variant

Xeroderma pigmentosum (XP) is an autosomal recessive disorder characterized by photo-induced deterioration of the skin, which often leads to the early development of skin cancers. To diagnose patients with XP and the related disorder Cockayne syndrome (CS), our laboratory has established a simple autoradiographic method that examines three cellular markers of DNA repair: unscheduled DNA synthesis (UDS), recovery of RNA synthesis (RRS) and recovery of replicative DNA synthesis (RDS). However, it is very laborious to measure the three markers using tritiated thymidine or uridine; therefore, we developed a non-isotope method for diagnosing XP and CS. Fibroblasts from the patient were labeled with bromodeoxyuridine (BrdU) instead of tritiated thymidine to measure UDS and RDS, or were labeled with bromouridine (BrU) instead of tritiated uridine to measure RRS. Incorporated BrdU or BrU could be detected using the immunofluorescence method. Moreover, we discovered a new useful marker for XP variant based on checkpoint activity. The non-radioisotope method and the new marker described here

1. Hashimoto, S., Egawa, K., Ihn, H., Igarashi, A., Matsunaga, T., \*Tateishi, S., and Yamaizumi, M. A New Disorder in UV-Induced Skin Cancer with Defective DNA Repair Distinct from Xeroderma Pigmentosum or Cockayne Syndrome. *J. Invest. Dermatol.* 128, 694-701, 2008 \*corresponding author
2. Hashimoto, S., Suga, T., Kudo, E., Ihn, H., Uchino, M., and \*Tateishi, S. Adult onset neurological degeneration in a patient with Cockayne syndrome and a null mutation in the CSB gene. *J. Invest. Dermatol.* 128, 1597-1599, 2008
3. Tsuji, Y., Watanabe, K., Araki, K., Shinohara, M., Yamagata, Y., Tsurimoto, T., Hanaoka, F., Yamamura, K., Yamaizumi, M., and \*Tateishi, S. Recognition of forked and single-stranded DNA structures by human RAD18 complexed with RAD6B protein triggers its recruitment to stalled replication forks. *Genes Cells* 13, 343-354, 2008
4. Tomida, J., Masuda, Y., Hiroaki, H., Ishikawa, T., Song, I., Tsurimoto, T., Tateishi, S., Shiomi, T., Kamei, Y., Kim, J., Kamiya, K., Vaziri, C., Ohmori, H. and Todo, T. DNA damage induced ubiquitylation of RFC2 subunit of RFC complex. *J. Biol. Chem.* 283, 9071-9079, 2008
5. Hashimoto S., Egawa, K., Ihn, H. and \*Tateishi, S. Non-radioisotope Method for Diagnosing Photosensitive Genodermatoses and A New Marker for Xeroderma Pigmentosum Variant *J. Dermatol.* 36, 138-143, 2009
6. Sun, J., Yomogida, K., Sakao, S., Yamamoto, H., Yoshida, K., Watanabe, K., Morita, T., Araki, K., Yamamura, K. and \*Tateishi, S. Rad18 is required for long-term maintenance of spermatogenesis in mouse testes. *Mech. Dev.* 126, 173-183, 2009 \*corresponding author
7. Watanabe, K., Iwabuchi, K., Sun, J., Tsuji, Y., Tani, T., Tokunaga, K., Date, T., Hashimoto, M., Yamaizumi, M. and \*Tateishi, S. RAD18 promotes DNA double-strand break repair during G1 phase through chromatin retention of 53BP1. *Nucleic Acids Res.* 37, 2176-2193, 2009
8. Yoshimura, A., Seki, M., Kanamori, M., Tateishi, S., Tsurimoto, T., Tada, S., Enomoto, T. Physical and functional interaction between WRNIP1 and RAD18. *Genes Genet. Syst.* 84, 171-178, 2009
9. Song, I.Y., Palle, K., Gurkar, A., Tateishi, S., Kupfer, G. M., Vaziri, C. Rad18-mediated translesion synthesis of bulky DNA adducts is coupled to activation of the Fanconi anemia DNA repair pathway. *J. Biol. Chem.* 285, 31525-31536, 2010
10. Day, T. A., Palle, K., Barkley, L. R., Kakusho, N., Zou, Y., Tateishi, S., Verreault, A., Masai, H., Vaziri, C. Phosphorylated Rad 18 directs DNA Polymerase  $\eta$  to sites of stalled replication. *J. Cell Biol.* 191, 953-966, 2010
11. \*Tateishi, S. A novel Rad18 ubiquitin ligase-mediated pathway for repair of camptothecin-induced DNA damage. *Cell Cycle* 10, 2057-2058, 2011 (News & Views)
12. Yanagihara, H., Kobayashi, J., Tateishi, S., Kato, A., Matsuura, S., Tauchi, H., Yamada, K., Takezawa, J., Sugawara, K., Masutani, C., Hanaoka, F., Weemaes, C. M., Mori, T., Komatsu, K. NBS1 recruits RAD18 via a RAD6-like domain and regulates Pol  $\eta$ -dependent translesion DNA synthesis. *Mol. Cell* 43, 788-797, 2011
13. Hendel, A., Krijger, P. H., Diamant, N., Goren, Z., Langerak, P., Kim, J., ReiBner, T., Lee, K. Y., Geacintov, N. E., Carell, T., Myung, K., Tateishi, S., D'Andrea, A., Jacobs, H., Livneh, Z. PCNA ubiquitination is important, but not essential for translesion DNA synthesis in mammalian cells. *PLoS Genet.* (9) e1002262. 2011

14. Hashimoto, K., Cho, Y., Yang, I., Akagi, J., Ohashi, E., Tateishi, S., Wind, N., Hanaoka, F., Ohmori, H., Moriya, M. The vital role of pol  $\zeta$  and REV1 in mutagenic, but not correct, DNA synthesis across benzo[ $\alpha$ ]pyrene-dG and the recruitment of pol  $\zeta$  by REV1 to a replication-stalled site. *J.Biol. Chem.* 287, 9613-9622, 2012
15. Nakazawa, Y., Sasaki, K., Mitsutake, N., Matsuse, M., Shimada, M., Ohyama, K., Ito, K., Masuyama, R., Kudo, T., Utani, A., Takenaka, K., Miki, Y., Nardo, T., Stefanini, M., Takahashi, Y., Yamashita, S., Tateishi, S., Lehmann, A., Yoshiura, K., Ogi, T. Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and impair RNA polymerase II processing in transcription-coupled nucleotide-excision repair. *Nat. genet.* doi: 10.1038/ng.2229, 2012
16. 立石 智、RAD18 による損傷トレランスの制御、生化学 80-2 号 128-132, 2008

## 学会発表目録 Meeting Presentations

- |  |   |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Tateishi, S. Recognition of forked and single-stranded DNA structures by human RAD18 complexed with RAD6B protein triggers its recruitment to stalled replication forks. The international ataxia-telangiectasia workshop 2008, Ohtsu 2008 April 22-26.</li> <li>2. Tateishi, S. Role of RAD18 in spermatogenesis. The 6<sup>th</sup> 3R Symposium, Ikegawa 2008 October 27-30.</li> <li>3. Tateishi, S. Role of Rad18 in spermatogenesis. Gordon conference Mammalian repair. Ventura, USA 2009 February.</li> <li>4. Tateishi, S. Rad18 regulates DNA damage tolerance via interaction with polymerase <math>\eta</math> and monoubiquitination of PCNA. International conference on radiation and cancer biology at Nagasaki 2010 長崎市 2010 年 2 月 17-20 日</li> <li>5. Tateishi, S., Watanabe, K., Sun, J., Iwabuchi, K., Yomogida, K. Rad18 is required for double-stranded break repair and long-term spermatogenesis. 第 34 回日本分子生物学会 年会 ワークショップ Molecular mechanism of replication fork recovery pathways, 横浜市 2011 年 12 月 13-16 日</li> <li>6. Tateishi, S. Loss of <i>Rad18</i> alleles suppresses tumorigenesis in <i>p53</i>-null mice via cellular senescence. Gordon conference DNA Damage Mutation &amp; Cancer, Ventura, U.S.A. 2012</li> </ol> | <p>March 25-30</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>7. 渡邊 健司、岩淵 邦芳、立石 智 DNA2 重鎖切断部位での Rad18 の集積とその役割の解明、第 51 回大会日本放射線影響学会、北九州市 2008 年 11 月 19-21 日</li> <li>8. 立石 智、岩淵邦芳、渡邊 健司 Rad18 は、53BP1 をモノユビキチン化することにより、G1 期での DNA2 重鎖切断損傷の修復を促進する。日本放射線影響学会 第 52 回大会、広島市 2009 年 11 月 11-13 日</li> <li>9. 柳原 啓見、森 俊雄、立石 智、小林 純也、小松 賢志 紫外線応答における NBS1 の新機能解析。日本放射線影響学会 第 52 回大会、広島市、2009 年 11 月 11-13 日</li> <li>10. 立石 智、江藤 瑞菜 Rad18 ノックアウトマウスの自然発癌の形成。日本放射線影響学会 第 53 回大会、京都市 2010 年 10 月 20-22 日</li> <li>11. 柳原 啓見、森 俊雄、立石 智、小林 純也、小松 賢志 NBS1 の DNA 損傷トレランス機構の役割。日本放射線影響学会 第 53 回大会、京都市 2010 年 10 月 20-22 日</li> <li>12. 柳原 啓見、立石 智、森 俊雄、小林 純也、小松 賢志 Potential role of NBS1 in translesion synthesis. 日本分子生物学会 第 33 回大会、神戸市 2010 年 12 月 7-10 日</li> </ol> |
|--|---|