

正井久雄 東京都医学総合研究所 ゲノム動態プロジェクト

所長

電話番号 03-5316-3220

FAX 番号 03-5316-3145

E-mail: masai-hs@igakuken.or.jp

研究テーマ

- (1) ゲノム複製メカニズムの普遍性と多様性の解明と複製システムの進化
- (2) 核内クロマチン構造・配置の制御と複製の時空間プログラム制御機構
- (3) 細胞内グアニン 4 重鎖構造核酸の形成メカニズムと存在様式の解明とその生物学的意義の解明
- (4) 複製障害に対する細胞応答機構と、種々の生体ストレス応答経路とのクロストークの解明
- (5) 複製因子、複製チェックポイント因子などを標的とした新規な創薬戦略の開発
- (6) 複製因子の個体の分化発生・制御における機能の解明

研究活動

ゲノム DNA 複製は、細胞の増殖・分化において中心的な役割を果たす。ゲノムは細胞の増殖に伴い、正確に、高速に、秩序正しく複製されなければならない。この過程に異常が生じると、がん細胞や老化細胞に見られるゲノムの遺伝的不安定性（変異、染色体の欠損や再編成など）を引き起こすことは容易に想像できる。実際、最近の研究から、内的・外的な原因による複製障害に対する適切な細胞応答の破綻が、初期がん細胞の遺伝的変化の主要な要因になっていることが示されている。

ゲノム複製に関する 3 個の重要な事象は下記の通りである。

- ①ゲノム複製は細胞周期に一度のみ起こり、細胞分裂と厳密に連動する。
- ②ゲノム複製は、空間的、時間的な制御の元、すべてのゲノムの複製を完了する。またこの過程はエピゲノム情報の維持や、変化とも連動する。
- ③種々の要因で起こる DNA 複製の停止に細胞が迅速に応答し、ゲノム安定性を維持する。

上記の事象のうち、①と③の破綻は、直ちにゲノム変化、細胞の癌化に直結する。

私達は、上記の事象に関連する問題を解決するために、主に以下の 4 個の研究課題を推進している。

1) 染色体 DNA 複製の開始とその時空間的制御の分子機構

真核細胞ゲノム複製では多くの部位から複製は開始する。また複製の時間的タイミングや、核内での複製部位の局在は、細胞型特異的な制御下にあり、染色体の核内配置、高次構造やエピゲノム情報などにも影響される(図 1)。

2) 特殊 DNA 構造の生物学的意義の解明

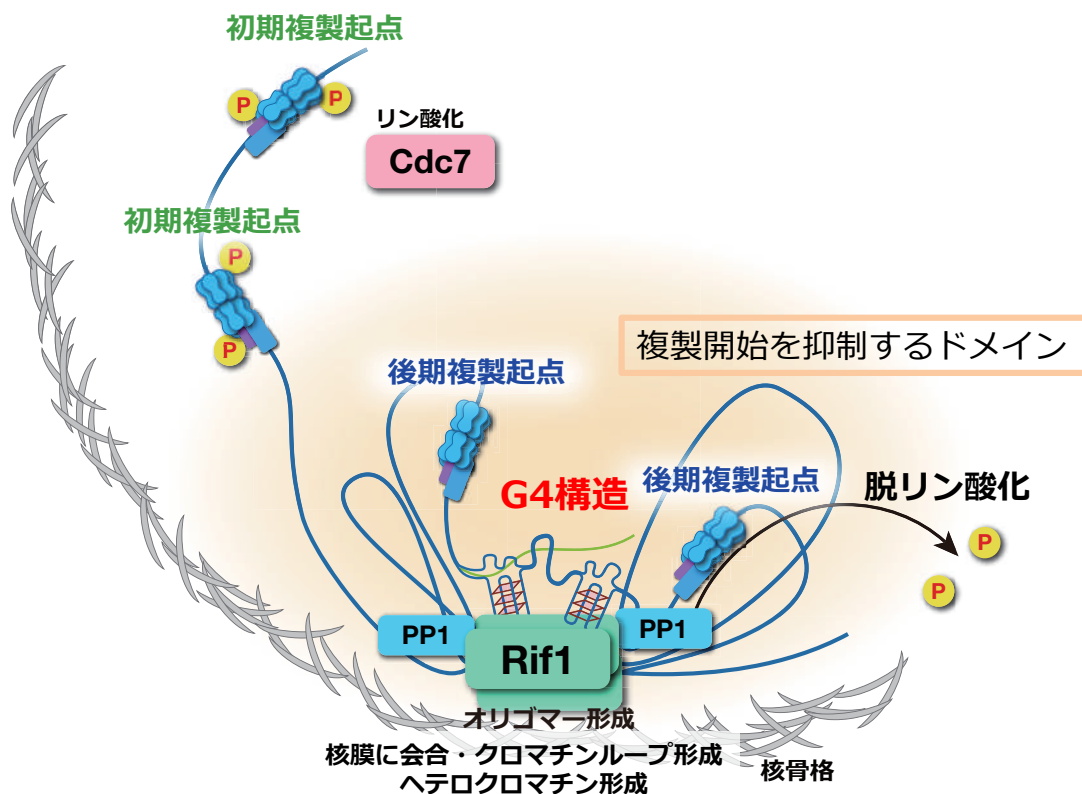
これまでの研究からグアニン 4 重鎖など非 B 型 DNA 構造が複製開始や染色体の高次構造構築などにおいて重要な役割を果たすことを明らかにしてきた(図 1 および図 2)。特に、グアニン 4 重鎖は、ゲノム上および転写された RNA 上に非常に頻繁に存在すると想像されており、ゲノム機能の未知の情報を担う可能性がある。

3) 複製ストレスに対する細胞応答の分子機構の解明とその新規制癌戦略への応用

複製障害は、がん化や老化のもっとも直接的な原因となる。従って、複製ストレスによる、細胞応答機構の解明は、がん化、老化の根本的メカニズム解明に必須である (図 3)。さらに私達は最近複製ストレス応答が、浸透圧、酸化、温度、最近感染、低酸素など種々の生体ストレスとクロストークしていることが明らかとなり、これらの生体ストレスがゲノム安定性に及ぼす影響を明らかにする (図 4)。

4) 複製因子の個体レベルでの機能と疾患への関与

複製因子が、個体の発生、臓器・組織の発生・機能において担う役割を、臓器・組織特異的ノックアウトマウスや、遺伝子改変動物の表現型の解析に基づき明らかにする(図 5)。



Kanoh, Y. *et al.* (2015) *Nat. Struct. Mol. Biol.* 22: 889-897

Toteva, T. *et al.* (2017) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 114: 1093-1098.

図1 Rif1 による染色体ドメインの形成のモデル

Rif1 は多量体を形成し複数の G4 構造を有する DNA に結合し、染色体ループ形成を促す。これにより複製や転写の制御ドメインの形成を促進する可能性がある(加納ら、*Nature Structure Molecular Biology*, 2015 より)。

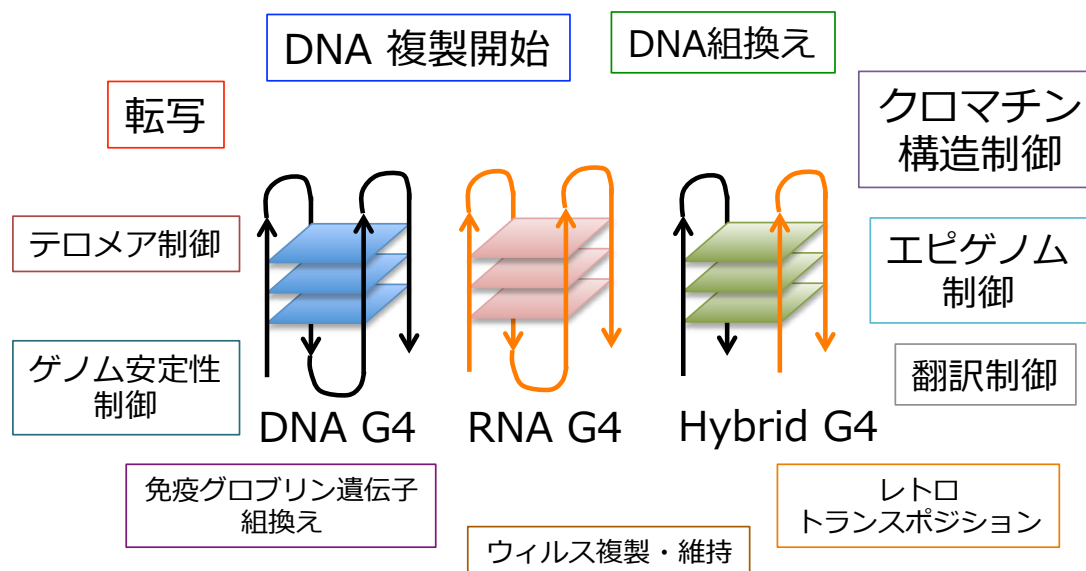


図2 G4(グアニン4重鎖)の多様な機能

G4 は多様な形態で DNA および RNA あるいは DNA-RNA hybrid 上に形成され、核酸が関与する多種多様な反応を制御する。

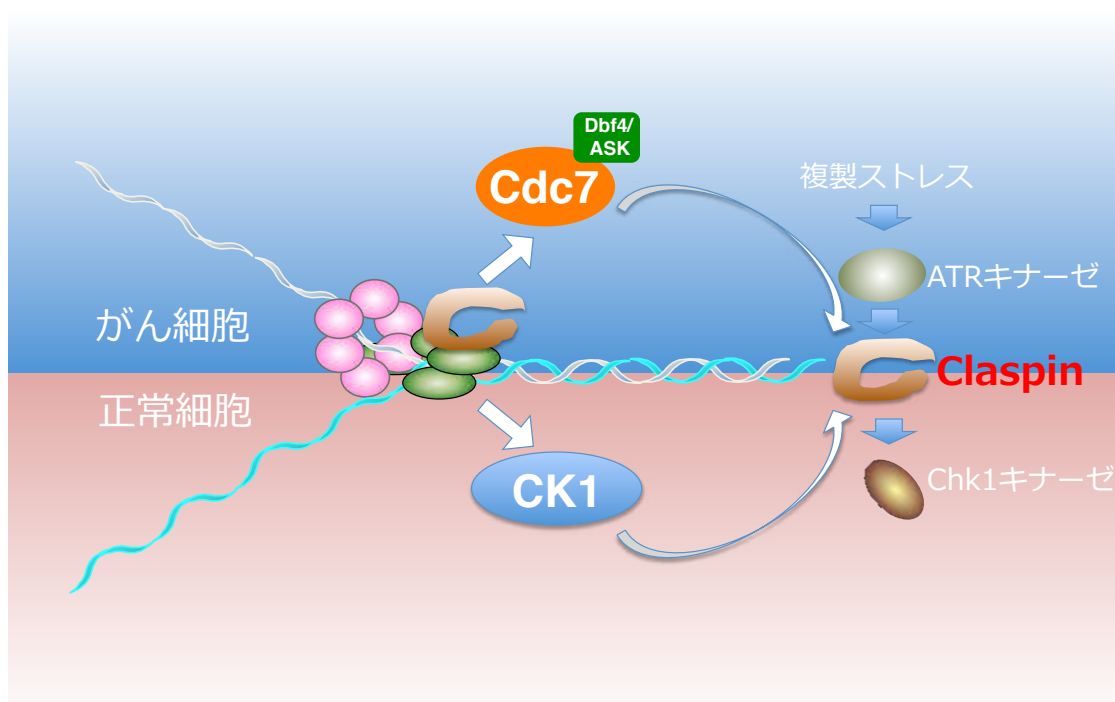


図3 がん細胞と正常細胞のDNA複製停止に対する細胞応答の違い
複製が予期せずに停止すると細胞は、図の右側に記載される複製チェックポイント反応を誘導する。Claspinはこの反応経路で、複製停止の信号を伝えるために重要な役割を果たす。がん細胞と正常細胞は、異なるタンパク質を用いてこの経路を活性化する。すなわちがん細胞はCdc7キナーゼを用いるが、正常細胞では主にCK1キナーゼに依存する。この違いを用いて、Cdc7を標的としてがん細胞のみを選択的に除去する治療戦略が可能となる。実際にCdc7は制癌剤の標的として開発が進んでいる。

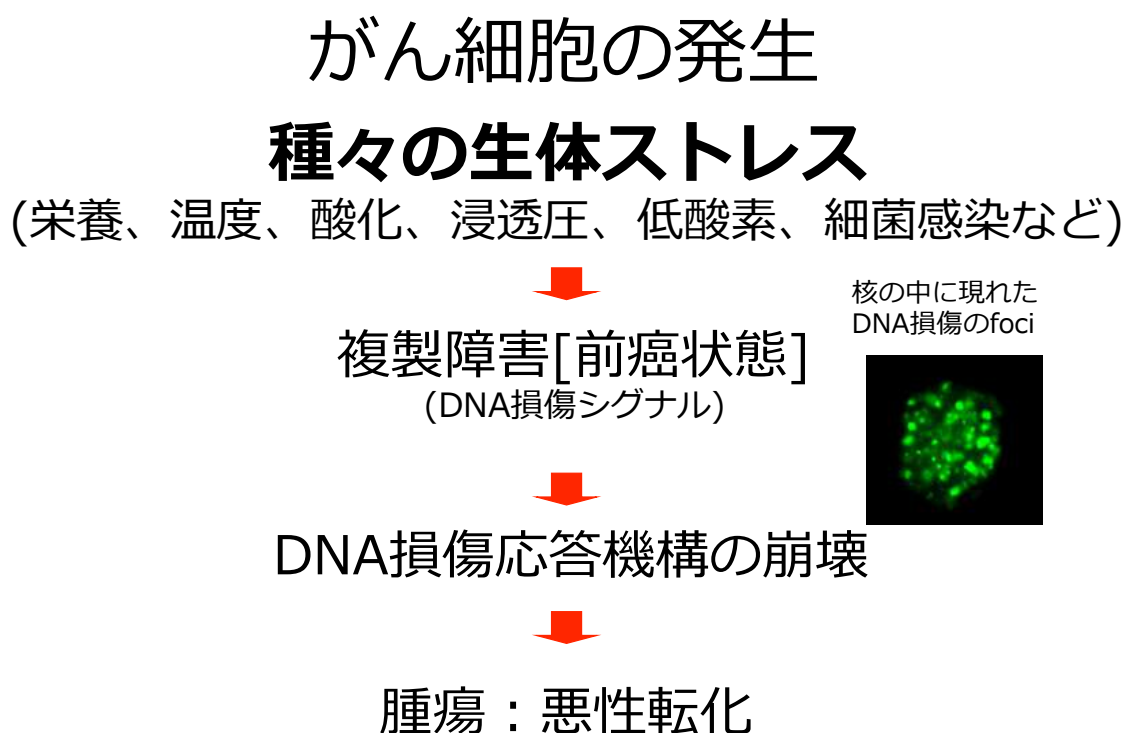


図4 がん細胞の発生

種々の生体ストレスは複製障害を誘導する可能性がある。複製障害は一時的にDNA損傷をゲノム上に誘導するが、修復される。しかしDNA損傷応答機構が崩壊すると細胞は腫瘍化する

生後 1 2 日



生後 1 8 日



図 5 $Cdc7(f/+)$ $Nestin^{Cre}$ マウスは脳の形成異常、成長遅延を示す
脳幹細胞において $Cdc7$ をノックアウトすると、マウスは誕生するが、生後の脳の形成異常、成長遅延を示し、生後 20 日までで死亡する。

将来計画

ヒトの 30 億塩基対の DNA の複製は 6-8 時間で完了する。複製の開始と進行は細胞周期進行に従って厳密に制御され、ゲノムは一度のみ複製されること、複製が完全に完了してから M 期に進行すること、複製が停止した場合には、その原因を発見し除去するまで細胞周期進行を一時停止し、DNA に傷が残らないようすること、など複製の基本原則が解明されつつある。複製の時空間プログラム(ゲノムの特定の領域がいつ、どこで、どのように複製されるか)は核内の染色体の高次構造のダイナミクスやエピゲノム状態、細胞内外の環境などにより影響を受け、細胞型特異的な制御下にある。高等生物では、複製の開始反応は厳密な塩基配列要求性をもたず、通常機能する複製起点を欠損させても、他の配列により tolerate されるという柔軟性・適応性をも有する。細胞は複製起点を必要量より大過剰に用意しており、複製の障害が起こってもゲノム全体の複製が支障なく完遂されるようなセーフガードシステムを内包している。このような、厳密性と可塑性を合わせ持つ制御系を規定するゲノム機能は、ゲノムの大部分を占める非コード領域に担われる。

計画 1 : グアニン 4 重鎖構造の生物の可塑性・確率論的事象における意義
我々は最近の研究から、G4 構造を含む非 B 型 DNA が複製開始、およびその時空

間制御に重要な働きをしていることを見出した(図1)。G4構造は複製のみならず、転写、組換え、ゲノム再編成など数多くのクロマチン動態を制御していることが次々と明らかになっている(図2)。当研究室では、G4構造/非B型DNAが内包するゲノム情報の解明からゲノムの新原理の発見を目指した研究を今後進めたいと考えている。私達は、G4構造の形成と崩壊は細胞内でダイナミックに起きていると想像している。そして、そのダイナミクス、可塑性が、転写開始や複製開始の可塑性、あるいはある場合には確率論的な事象の分子的基盤となる可能性を検討する。そのためには、細胞内G4を検出する新規な方法論の開発が必要となる。

「複製ストレスが発がんの引き金をひく」という概念が提唱されている。geneticあるいはepigeneticな変化により誘導される、いわゆるoncogenic stressは、未知の機構を介して複製停止ストレスを誘導する。その後、複製ストレス/DNA損傷シグナリングの機構の崩壊により、より大規模なゲノム変化が誘導され腫瘍の悪性化が進行する。したがって、複製フォークの安定維持の分子機構およびそれに関与する因子の生理的役割の解析が今後、発がん機構や、老化の解明に必須である。Mrc1/Claspinはその中でも中心的な役割を果たす。

計画2：生体ストレスと複製障害/ゲノム不安定性誘導の発がん過程における役割

最近我々は、Mrc1/Claspinの複製開始および複製ストレス応答制御における新規機能を発見し報告した(図3)。さらに、栄養、温度、浸透圧、低酸素など種々の生体ストレスシグナルはClaspinを介して、下流に複製ストレス応答を誘導することを見出した(図4)。この発見は、生体ストレスがゲノム不安定性を誘導し、やがて細胞の癌化をもたらすという癌発生のメカニズムの根幹に関わる可能性を示唆する。今後Claspinを中心としたストレスネットワークの解明を目指す。

計画3：複製制御因子の個体分化・発生における未知の機能の解明

複製因子の変異が、疾患の原因になっている例が報告されている。我々はCdc7を始めとする複製因子のノックアウトマウスの解析から、これらの因子は個体の発生、特定の臓器・組織の発生機発現に重要な役割を果たす可能性を示している(図5)。今後、個体レベルにおける複製因子の未知の機能解明を通じて、複製と発生の新たな分子経路の解明を目指す。

計画4：複製因子を標的とした、新規制癌戦略の開発

我々はこれまでCdc7キナーゼを中心として複製因子が、制癌剤の有効な標的となる可能性を指摘してきた。また、がん細胞と正常細胞の複製ストレスに対する応答メカニズムの差異を発見し(図3)、これを基盤に、より効果的な制癌戦略を策定が可能になる。また、複製障害と細胞周期の別の時期を標的にする因子の組み合わせにより、より効果的にがん細胞死を誘導できることも見出している。我々の研究から見出された新しい標的とともに、これまで考えられていない新たな制癌戦略を計画し、その効果を細胞レベル、動物レベルで解析し、臨床への応用を目指す。

教官からのメッセージ

苦あれば楽ありといいますが、研究は、よくて苦が9割で楽は1割くらいだと

思います。しかし、努力は必ず報われると信じて、楽観的にプラス思考で研究生活をすすめることが大事です。最初はじっくり考えて自分の問題を設定し、一旦決めたら、夢に出てくるまでその問題を考える（そして実験を行う）。そうしたら、きっと人の見つけていない発見ができます。そして、どんな小さなことでも、自分で見つけた発見を大切に、大切にしてください。それはあなたの宝物です。ひょっとしたらそこには、ダイヤモンドがかくれているかもしれません。

質問などありましたら、いつでも masai-hs@igakuken.or.jp にご連絡ください。また Skype や Zoom での質問も受け付けますので、ご連絡ください。

原著論文 (2006 年以降)

1. Ogino, K. and ***Masai, H.** (2006) "Rad3-Cds1 mediates coupling of initiation of meiotic recombination with DNA replication: Mei4-dependent transcription as a potential target of meiotic checkpoint."
J. Biol. Chem. 281,1338-1344.
2. Tanaka, T. and ***Masai, H.** (2006) "Stabilization of a stalled replication fork by concerted actions of two helicases."
J. Biol. Chem. 281, 3484-3493.
3. Sasaki, K., Ose, T., Tanaka, T., Mizukoshi, T., Ishigaki, T., Maenaka, K., **Masai, H.** and *Kohda, D. (2006) "Crystallization and preliminary crystallographic analysis of the N-terminal domain of PriA from *Escherichia coli*."
Biochim. Biophys. Acta. 1764, 157-160.
4. Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yamagata, H., **Masai, H.**, Yoneda, H. and *Yanagi, K. (2006) "Nuclear import of Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1 mediated by NPI-1 (Importin α) is up- and down-regulated by phosphorylation of the nuclear localization signal for which Lys379 and Arg380 are essential."
J. Virol. 80, 1979-1991.
5. Ogino, K., Hirota, K., Matsumoto, S., Takeda, T., Ohta, K., Arai, K. and ***Masai, H.** (2006) "Hsk1 kinase is required for induction of meiotic double-stranded DNA breaks without involving checkpoint kinases in fission yeast."
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, 8131-8136.
6. Hayashida, T., Oda, M., Ohsawa, K., Yamaguchi, A., Giacca, M., Locksley, R.M., **Masai H.*** and Miyatake, S.* (2006) "Replication initiation from a novel origin identified in the Th2 cytokine cluster locus requires a distant conserved non-coding sequence." (*cocommunicating authors)
J. Immunol. 176, 5446-5454.
7. ***Masai, H.**, Taniyama, C., Ogino, K., Matsui, E., Kakusho, N., Matsumoto, M., Kim, J-M., Ishii, A., Tanaka, T., Kobayashi, T., Tamai, K., Ohtani, K., and Arai, K. (2006) "Phosphorylation of MCM4 by Cdc7 kinase facilitates its interaction with Cdc45 on the

chromatin."

***J. Biol. Chem.* 281, 39249-32961. (This paper was selected as "JBC paper of the week" and was featured in the cover of December 22 issue of JBC.)**

8. Yoshizawa-Sugata, N. and ***Masai, H.** (2007) "Human Tim/Timeless-interacting protein, Tipin, is required for efficient progression of S phase and DNA replication checkpoint."

***J. Biol. Chem.* 282, 2729-2740**

9. Tanaka, T., Mizukoshi, T., Sasaki, K., Kohda, D. and ***Masai, H.** (2007) "*Escherichia coli* PriA protein: Two modes of DNA binding and activation of ATP hydrolysis."

***J. Biol. Chem.* 282, 19917-19927.**

10. Sasaki, K., Ose, T., Okamoto, N., Maenaka, K., Tanaka, T., ***Masai, H.**, Saito, M., Shirai, T. and D. Kohda (2007) "Structural basis of the 3'-end recognition of a leading strand in stalled DNA replication forks by PriA."

***EMBO J.* 26, 19917-19927**

11. Kim, J-M., Kakusho, N., Yamada, M., Kanoh, Y., Takemoto, N., and ***Masai, H.** (2008) "Cdc7 kinase is required for Claspin phosphorylation in DNA replication checkpoint."

***Oncogene* 27, 3475-3482.**

12. Sasanuma, H., Hirota, K., Fukuda, T., Kakusho, N., Kugou, N., Kawasaki, Y., Shibata, T., **Masai, H.**, and *Ohta, K. (2008) "Cdc7-dependent phosphorylation of Mer2 facilitates initiation of yeast meiotic recombination."

***Genes & Dev.* 22, 398-410.**

13. Sakaue-Sawano, A., Kurokawa, H., Morimura, T., Hanyu, A., Hama, H., Kashiwagi, S., Fukami, K., Imamura, T., Ogawa, M., **Masai, H.** and *Miyawaki, A. (2008) "Spatio-temporal dynamics of multicellular cell cycle progression."

***Cell* 132, 487-498. (Featured on the cover of the issue; "Exceptional" evaluation in F1000)**

14. Kakusho, N., Taniyama, C. and ***Masai, H.** (2008) "Identification of stimulators and inhibitors of CDC7 kinase *in vitro*."

***J. Biol. Chem.* 283, 19211-19218.**

15. You Z. and Masai H. (2008) "Cdt1 forms a complex with MCM and activates its helicase activity."

***J. Biol. Chem.* 283, 24469-24477.**

16. Shimmoto, S., Matsumoto, S., Hayano, M., Yokoyama, M., Noguchi, E., Russell, P. and ***Masai, H.** (2009) "Interactions between Swi1-Swi3, Mrc1 and S phase kinase, Hsk1 may regulate cellular responses to stalled replication forks in fission yeast."

***Genes to Cells* 14, 669-682.**

17. Tanaka, H., Kubota, Y., Tsujimura, T., Kumano, M., Masai, H. and *Takisawa, H. (2009) "Replisome progression complex links DNA replication to sister chromatid cohesion in *Xenopus* egg extracts."
Genes to Cells 14, 949-963.
18. Yoshizawa-Sugata, N. and *Masai, H. (2009) "Roles of human AND-1 in chromosome transactions in S phase."
J. Biol. Chem. 284, 20718-20728.
19. Tanaka, T., Yokoyama, M., Matsumoto, S., Fukatsu, R., You, Z. and *Masai, H. (2010) "Fission yeast Swi1-Swi3 complex facilitates DNA binding of Mrc1."
J. Biol. Chem. 285, 39609-39622.
20. Kundu, L.R., Kumata, Y., Kakusho, N., Watanabe, S., Furukohri, A., Waga, S., Sekia, M., Masai, H., Enomoto, T., and *Tada, S. (2010) "Deregulated Cdc6 inhibits DNA replication and suppresses Cdc7-mediated phosphorylation of Mcm2-7 complex."
Nucleic Acid Res. 38, 5409-5418.
21. Takeishi, Y., Ohashi, E., Ogawa, K., Masai, H., Obuse, C. and Tsurimoto, T. (2010) "Casein kinase 2-dependent phosphorylation of human Rad9 mediates the interaction between human Rad9-Hus1-Rad1 complex and TopBP1."
Genes Cells 15, 761-771.
22. Furuya, K., Miyabe, I., Tsutsui, Y., Paderi, F., Kakusho, N., Masai, H., Niki, H. and *Carr, A. M. (2010) "DDK phosphorylates checkpoint clamp Rad9 and promotes its release from damaged Chromatin."
Mol. Cell 40, 606-618.
23. Day, T.A., Palles, K., Barkley, L.R., Kakusho, N., Zou, Y., Tateishi, S., Verreault, A., Masai, H. and *Vaziri, C. (2010) "Cdc7-Mediated Rad18 Phosphorylation Directs the Accumulation of DNA Polymerase η at Sites of Stalled Replication."
J. Cell Biol. 191, 953-966.
24. Matsumoto, S., Shimmoto, M., Kakusho, N., Yokoyama, M., Russell, P. and *Masai, H. (2010) "Hsk1 kinase and Cdc45 regulate replication stress-induced checkpoint responses in fission yeast."
Cell Cycle 9, 4627-4637.
25. Kitamura, R., Fukatsu, R., Kakusho, N., Cho, Y-S., Taniyama, C., Yamazaki, S., Toh, G-T., Yanagi, K., Arai, N., Chang, H-J. and *Masai, H. (2011) "Molecular mechanism of activation of human Cdc7 kinase: Bipartite interaction with Dbf4/ASK stimulates ATP binding and substrate recognition."
J. Biol. Chem. 286, 23031-23043.
26. Hayano, M., Kanoh, Y., Matsumoto, S., Kakusho, N. and *Masai, H. (2011) "Pre-firing binding of Mrc1 defines the early-firing origins which are selectively

hyper-activated upon loss of fork stabilizing factors in fission yeast."

***Mol. Cell. Biol.* 31, 2380-2389. ("Recommended" evaluation in F1000)**

27. Uno, S and ***Masai, H.** (2011) "Efficient expression and purification of human replication fork-stabilizing factor, Claspin, from mammalian cells: DNA binding activity and novel protein interactions."

***Genes to Cells*, 16, 842-856.**

28. Matsumoto, S., Hayano, M., Kanoh, Y. and ***Masai, H.** (2011) "Multiple pathways can bypass the essential role of fission yeast Hsk1 kinase in DNA replication initiation."

***J. Cell Biol.* 195, 387-401. ("Must Read" evaluation in F1000)**

29. Hayano, M., Kanoh, Y., Matsumoto, S., Shrahige, K. and ***Masai, H.** (2012) "Rif1 is a global regulator of timing of replication origin firing in fission yeast."

***Genes and Development* 26,137-150. ("Exceptional" evaluation in F1000; Highlighted in A-IMBN Research)**

30. Yamazaki, S., Ishii, A., Kanoh, Y., Oda, M., Nishito, Y. and ***Masai, H.** (2012) "Rif1 protein is a key regulator of the genome-wide DNA replication timing in human cells."

***EMBO J.* 31, 3167-3177. (Highlighted in Commentary; highlighted in A-IMBN Research)**

31. Barkley, L.R., Palle, K., Durando, M., Day, T.A., Gurkar, A., Kakusho, N., Li, J., **Masai, H.**, *Vaziri, C. (2012) "c-Jun N-terminal Kinase (JNK)-Mediated Rad18 Phosphorylation Facilitates Pol η Recruitment to Stalled Replication Forks."

***Mol. Biol. Cell.* 23, 1943-1954.**

32. Moriyama, K., Yoshizawa-Sugata, N., Obuse, C., Tsurimoto, T. and ***Masai, H.** (2012) "EBNA1-dependent recruitment of Orc on OriP of Epstein-Barr virus with purified proteins: Stimulation by Cdc6 through Its direct interaction with EBNA1."

***J. Biol. Chem.* 287, 23977-23994.**

33. Ito, S., Ishii, A., Kakusho, N., Taniyama, C., Yamazaki, S., Sakaue-Sawano, A., Miyawaki, A., and ***Masai, H.** (2012) "Mechanism of cancer cell death induced by depletion of an essential replication regulator."

***PLoS One*, 7, e36372. (Highlighted in A-IMBN Research)**

34. Uno, S., You, Z., and ***Masai, H.** (2012) "Purification of replication factors using insect and mammalian cell expression systems."

***Methods*, 57, 214-221.**

35. Oda, M., Kanoh, Y., Watanabe, Y., and ***Masai, H.** (2012) "Regulation of DNA replication timing on human chromosome by a cell-type specific DNA binding protein SATB1."

***PLoS One* 7, e42375.**

36. Miyoshi, T., Kugou, K., Yamada, S., Ito, M., Furuichi, M., Oda, A., Hirota, K. and **Masai, H.** and *Ohta, K. (2012) "A central coupler for recombination initiation linking chromosome architecture to S-phase checkpoint."
Mol. Cell 47, 722-733.
37. Suzuki, T., Tsuzuku, J., Hayashi, A., Shiomi, Y., Iwanari, H., Mochizuki, Y., Hamakubo, T., Kodama, T., Nishitani, H., **Masai, H.** and *Yamamoto, T. (2012) "Inhibition of DNA damage-induced apoptosis through Cdc7-mediated stabilization of Tob."
J. Biol. Chem. 287, 40256-40265. **(Highlighted in A-IMBN Research)**
38. Yamada, M., Watanabe, K., Mistrik, M., Mailand, N., Lee, M-H., **Masai, H.**, Lukas, J. and *Bartek, B. (2013) "ATR-Chk1-APC/C^{Cdh1}-dependent stabilization of Cdc7-ASK(Dbf4) kinase complex is required for DNA damage bypass under replication stress."
Genes and Development 27, 2459-2472.
39. You, Z., De Falco, S., Pisani, F.M. and ***Masai, H.** (2012) "MCM helicase interacts with primase and stimulates its priming activity."
PLoS One 8, e72408
40. Aria, V., De Felice, M., Di Perna, R., Uno, S., **Masai, H.**, Syvaoja, J.E., van Loon, B., Hubscher, U., *Pisani, F.M. (2013) "The Human Tim/Tipin Complex Directly Interacts with DNA Polymerase {epsilon} and Stimulates its Synthetic Activity."
J. Biol. Chem. 288, 12742-12752.
41. Jeffery, D.C., Wyse, B.A., Rehman, M.A., Brown, G.W., You, Z., Oshidari, R., **Masai, H.**, *Yankulov, K.Y. (2013) "Analysis of epigenetic stability and conversions in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a novel role of CAF-I in position-effect variegation."
Nucleic Acids Res. 41, 8475-8488.
42. Tanikawa, M., Wada-Hiraike, O., Yoshizawa-Sugata, N., Shirane A, Hirano M, Hiraike H, Miyamoto, Y., Sone, K., Ikeda, Y., Kashiya, T., Oda K, Kawana K, Katakura Y, Yano T, **Masai, H.**, Roy AL, Osuga, Y., *Fujii, T. (2013) "Role of multifunctional transcription factor TFII-I and putative tumour suppressor DBC1 in cell cycle and DNA double strand damage repair."
Br. J. Cancer. 109, 3042-3048.
43. Bellelli, R., Castellone, M.D., Guida, T., Limongello, R., Dathan, N.A., Merolla, F., Cirafici, A.M., Affuso, A., **Masai, H.**, Costanzo, V., Grieco, D., Fusco, A., Santoro, M., and *Carlomagno, F. (2014) "NCOA4 Transcriptional Coactivator Inhibits Activation of DNA Replication Origins."
Mol. Cell 55, 123-137.
44. D., Kakusho, N., You, Z., Gharib, M., Wyse, B., Drury, E., Weinreich, M., Thibault, P. Verreault, A., **Masai, H.** and *Yankulov, K. (2015) "CDC28 phosphorylates Cac1p and regulates the association of Chromatin Assembly Factor I with chromatin."

Cell Cycle 14, 74-85.

45. Kotaro Koiwai, Takashi Kubota, Nobuhisa Watanabe, Katsutoshi Hori, Osamu Koiwai and ***Hisao Masai** (2015) "Definition of the transcription factor TdIF1 consensus binding sequence through genome-wide mapping of its binding sites." *Genes to Cells* 20, 242-254.

46. Zech, J., Godfrey, E.L., **Masai, H.**, Hartsuiker, E. and ***Dalgaard, J.Z.** (2015) "The DNA-Binding Domain of *S. pombe* Mrc1 (Claspin) Acts to Enhance Stalling at Replication Barriers." *PLoS One* 10, e0132595.

47. Iguchi, T., Aoki, K., Ikawa, T., Taoka, M., Taya, C., Yoshitani, H., Toma-Hirano, M., Koiwai, O., Isobe, T., Kawamoto, H., **Masai, H.** and ***Miyatake, S.** (2015) "BTB-ZF Protein Znf131 Regulates Cell Growth of Developing and Mature T Cells." *J. Immunol.* 195:982-993.

48. Yutaka Kanoh, Seiji Matsumoto, Rino Fukatsu, Naoko Kakusho, Nobuaki Kono, Claire Renard-Guillet, Koji Masuda, Keisuke Iida, Kazuo Nagasawa, Katsuhiko Shirahige, and ***Hisao Masai** (2015) "Rif1 binds to G-quadruplexes and suppresses replication over long distances." *Nature Struct. Mol. Biol.* 22, 889-897.

49. Zhiying You, Koji L. Ode, Haruhiko Takisawa, and ***Hisao Masai** (2016) "Characterization of conserved arginine residues on Cdt1 that affect licensing activity and interaction with Geminin or Mcm complex." *Cell Cycle* 5, 1213-1226.

50. Tanaka T, Nishito Y, ***Masai H.** (2016) "Fork restart protein, PriA, binds around oriC after depletion of nucleotide precursors: Replication fork arrest near the replication origin." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 470, 546-551.

51. Tanaka H, Muto A, Shima H, Katoh Y, Sax N, Tajima S, Brydun A, Ikura T, Yoshizawa N, **Masai H.**, Hoshikawa Y, Noda T, Nio M, Ochiai K, ***Igarashi K.** (2016) "Epigenetic Regulation of the Blimp-1 Gene (Prdm1) in B Cells Involves Bach2 and Histone Deacetylase 3." *J. Biol. Chem.* 291, 6316-6330.

52. ***Nonaka T**, Suzuki G, Tanaka Y, Kametani F, Hirai S, Okado H, Miyashita T, Saitoe M, Akiyama H, **Masai H.**, Hasegawa M. (2016) "Phosphorylation of TAR DNA-binding Protein of 43 kDa (TDP-43) by Truncated Casein Kinase 1 δ Triggers Mislocalization and Accumulation of TDP-43." *J. Biol. Chem.* 291, 5473-5483.

53. Chi-Chun Yang, Masahiro Suzuki, Shiori Yamakawa, Syuzi Uno, Ai Ishii, Satoshi Yamazaki, Rino Fukatsu, Ryo Fujisawa, Kenji Sakimura³, Toshiki Tsurimoto, ***Hisao**

Masai (2016) "Claspin recruits Cdc7 kinase for initiation of DNA replication in human cells."

Nature Communications 7:12135 doi: 10.1038/ncomms12135.

54. Matsumoto, S., Kanoh, Y., Shimmoto, M., Hayano, M., Ueda, K., Fukatsu, R., Kakusho, N., ***Masai, H.** (2017) "Checkpoint-independent Regulation of Origin Firing by Mrc1 through Interaction with Hsk1 kinase."

Mol. Cell. Biol. Mar 17;37(7). pii: e00355-16. doi: 10.1128/MCB.00355-16. Print 2017 Apr 1. PMID: 28069740

55. Toteva, T., Mason, B., Kanoh, Y., Brøgger, P. Green, D., Verhein-Hansen, J. **Masai, H.** and *Thon, G. (2017) "Establishment of expression-state boundaries by Rif1 and Taz1 in fission yeast."

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 114, 1093-1098.

56. You, Z. and **Masai, H.** (2017) Potent DNA strand annealing activity associated with mouse Mcm2~7 heterohexamer complex."

Nucleic Acids Res. 45, 6495-6506.

57. Irie T, Asami T, Sawa A, Uno Y, Hanada M, Taniyama C, Funakoshi Y, **Masai, H.**, and *Sawa M. (2017) "Discovery of novel furanone derivatives as potent Cdc7 kinase inhibitors."

Eur. J. Med. Chem. 130, 406-418.

58. Moriyama, K., Yoshizawa-Sugata, N., and ***Masai, H.** (2018) "Oligomer formation and G-quadruplex binding by purified murine Rif1 protein, a key organizer of higher-order chromatin architecture."

J. Biol. Chem. 293, 3607-3624.

59. Iguchi, T., Miyauchi, E., Watanabe, S., **Masai, H.** and *Miyatake. S. (2018) "A BTB-ZF protein, ZNF131, is required for early B cell development."

Biochemical and Biophysical Research Communications, 501, 70-575.

60. ***Masai, H.**, Kakusho, N., Fukatsu, R., Ma, Y., Iida, K., Kanoh, Y. and Nagasawa, K. (2018) "Molecular architecture of G-quadruplex structures generated on duplex Rif1 binding sequences."

J Biol Chem. 293, 17033-17049.

61. Kobayashi, S., Fukatsu, R., Kanoh, Y., Kakusho, N., Matsumoto, S., Chaen, S. and ***Masai, H.** (2019) "Both a unique motif at the C terminus and N-terminal HEAT repeat contribute to G4 binding and origin regulation by Rif1 protein."

Mol Cell. Biol. 39(4). pii: e00364-18. Appeared in the cover figure of the issue

62. ***Masai, H.**, Fukatsu, R., Kakusho, N., Kanoh, Y., Moriyama, K., Ma, Y., Iida, K., Nagasawa, K. (2019) "Rif1 promotes self-association of G-quadruplex (G4) by its specific G4 binding and oligomerization activities."

Sci. Rep., 9(1), 8618.

63. Ito, S., Goto, H., Kuniyasu, K., Shindo, M., Yamada, M., Tanaka, K., Toh, G-K., Sawa, S., Inagaki, M., Bartek, B., and ***Masai, H.** (2019) "Cdc7 kinase stimulates Aurora B kinase in M-phase."

Sci. Rep., 9(1):18622.

64. Yang, C-C., Kato, H., Shindo, M. and ***Masai, H.** (2019) "Cdc7 activates replication checkpoint by phosphorylating the Chk1 binding domain of Claspin in human cells."

E-life, 8. pii: e50796.

65. ***Kato H, Asamitsu K, Sun W, Kitajima S, Yoshizawa-Sugata N, Okamoto T, Masai H, Poellinger L.** (2020) "Cancer-derived UTX TPR mutations G137V and D336G impair interaction with MLL3/4 complexes and affect UTX subcellular localization."

Oncogene. doi: 10.1038/s41388-020-1218-3. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 32071397.

英文総説 (2008 年以降)

1 Fujii-Yamamoto, H., Yamada, M., and ***Masai, H.** (2008) "Regulation of DNA replication factors by E2F in cancer and embryonic stem cells." in "Control of Cellular Physiology by E2F Transcription Factors."

Research Signpost 209-221.

2 Ito, S., Taniyama, C., Arai, N. and ***Masai, H.** (2008) "Cdc7 as a potential new target for cancer therapy."

Drug News and Perspectives 21, 481-488. **Featured on the cover of the issue**

3 Sawa, M., and ***Masai, H.** (2009) "Drug Design with Cdc7 kinase, a potential novel cancer therapy target."

Drug Design, Development and Therapy 2, 255-264.

4 Toh, G.K., and **Masai, *H.** (2009) "ASK"

UCSD-Nature Molecule Pages, Published online: 25 Feb 2009 | doi:10.1038/mp.a000345.01 (Review)

5 ***Masai, H.**, Matsumoto, S., You, Z., Yoshizawa-Sugata, N. and Oda, M. (2010) "Eukaryotic DNA replication; where, when and how?"

Annual Rev. Biochem. 79, 89-130.

6 ***Masai, H.**, Tanaka, T. and Kohda, D. (2010) "Stalled replication forks: Making ends meet for recognition and stabilization."

Bioessays 32, 687-697. (Review)

7 Tanaka, T. and ***Masai, H.** (2010) "Bacterial primosome." In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI:

10.1002/9780470015902.a0001048.pub2

8 Tanaka, T. and ***Masai, H.** (2010) "Bacterial replication fork: synthesis of lagging strand." In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0001049.pub2

9 ***Masai, H.** (2010) "FANCs regulate firing of DNA replication origins."

- Cell Cycle* 9, 2494.
- 10 Vaziri, C. and ***Masai H.** (2010) "Integrating DNA replication with Trans-Lesion Synthesis via Cdc7." *Cell Cycle* 9, 4818-4823.
 - 11 ***Masai, H.** (2011) "RecQL4: a helicase linking formation and maintenance of a replication fork." *J. Biochem.* 149, 629-631 (commentary)
 - 12 Toh G-T. and ***Masai, H.** (2012) "Cdc7L1" *UCSD-Nature Molecule Pages*, Published online: 31 August 2012 | doi:10.6072/H0.MP.A003137.01 (Review)
 - 13 ***Masai, H.** (2012) "Cdc7" The Encyclopedia of Signaling Molecules Springer Reference and Database Publishing
 - 14 ***Masai, H.** (2012) "Dbf4" The Encyclopedia of Signaling Molecules Springer Reference and Database Publishing
 - 15 Yamazaki, Hayano, M. and ***Masai, H.** (2013) "Replication timing regulation of eukaryotic replicons: Rif1 as a global regulator of replication timing." *Trends in Genetics.* 29, 449-460.
 - 16 ***Masai, H.** (2013) "A personal reflection on the Replicon Theory: from R1 plasmid to replication timing regulation in human cells." *J. Mol. Biol.* 425, 4663-4672. (Review)
 - 17 Matsumoto, S. and ***Masai, H.** (2013) "Regulation of chromosome dynamics by Hsk1 kinase." *Biochemical Society Transactions* 41, 1712-1719. (Review)
 - 18 Yoshizawa-Sugata, N. and ***Masai, H.** (2014) "Cell cycle synchronization and flow cytometry analysis of mammalian cell." *Methods in Molecular Biology*, 1170, 279-293. (Review)
 - 19 ***Hisao Masai** (2014) "ATM in prevention of genomic instability." *Cell Cycle*, 13, 882-883. (News and Views)
 - 20 Renard-Guillet, C., Kanoh, Y., Shirahige, K., and ***Masai, H.** (2014) "Recent advances in temporal and spatial regulation of eukaryotic DNA replication: From regulated initiation to genome-scale timing program." *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 30, 110-120. (Review)
 - 21 Yamada, M., **Masai, H.**, and *Bartek, J. (2014) "Regulation and roles of Cdc7 kinase under replication stress." *Cell Cycle* 13, 1859-1866.
 - 22 ***Masai, H.** (2015) "Building up the machinery for DNA replication." *Cell Cycle* 14, 3011-3012. (News and Views)
 - 23 Naoko Yoshizawa, Satoshi Yamazaki, and ***Hisao Masai** (2015) "Rif1, a conserved chromatin factor regulating DNA replication, DNA repair and transcription." In *The Initiation of DNA Replication in Eukaryotes*, Springer

- 24 Hayano, M., Matsumoto, S. and ***Masai, H.** (2015) "DNA Replication Timing: Temporal and Spatial Regulation of Eukaryotic DNA Replication." in Fumio Hanaoka and Kaoru Sugasawa (Eds): DNA Replication, Recombination, and Repair (Springer)
- 25 ***Masai, H.**, Kanoh, Y., Moriyama, K., Yamazaki, S., Yoshizawa, N., and Matsumoto, S. (2017) "Telomere binding factors in regulation of DNA replication." *Genes & Genetic Systems*, Jun 30. doi: 10.1266/ggs.17-00008. [Epub ahead of print] (Review)
- 26 ***Masai, H.** (2017) "A novel p53-Cdc7 link induced by genotox stress." *Cell Cycle*, 6, 735-736 (News and Views)
- 27 ***Masai, H.**, Yang, C-C., and Matsumoto, S. (2017) "Mrc1/Claspin: a new role for regulation of origin firing." *Current Genetics* 45, 6494-6506. (Review)
28. ***Masai, H.** Encyclopedia of Signaling Molecules, 2nd Edition : Dbf4 (2017)
29. ***Masai, H.** Encyclopedia of Signaling Molecules, 2nd Edition : Cdc7 (2017)
30. Moriyama, K., Lai, M.S. and ***Masai, H.** (2017) "Interaction of Rif1 Protein with G-Quadruplex in Control of Chromosome Transactions." *Adv Exp Med Biol* Vol. 1042, pp287-310. "DNA Replication, From Old Principles to New Discoveries" (Masai, H. and Foiani, M. Eds) Springer
31. Ghadiri, H. Alavi, S., Dabirmanesh, B., Moriyama, K., ***Khajeh, K.** and **Masai, H.** "Study Break: Cell Timer/Cell Clock." *Iran Biomed J.* 2018 Sep 16. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30218996.
32. Tanaka, T. and ***Masai, H.** (2019) "Bacterial primosome." In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. In press
33. Masai, H. (2019) "For 60th birthday of BBRC: DNA replication factors outside S phase." *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 520:685-686.

和文総説(2006 年以降)

- 正井久雄(2006, 翻訳分担): 第 15 章 "Cell cycle control, apoptosis and ageing" ヒトの分子生物学(村松正實 監訳) 丸善株式会社 PP408-442.
- 荻野桂子、廣田耕志、太田邦史、正井久雄(2006) "体細胞分裂に重要な役割を果たす分裂酵母 Cdc7 類似キナーゼ, Hsk1 タンパク質は減数分裂期組換えの開始に必要とされる" 細胞工学(秀潤社) 25 巻、pp1048-1049.
- 正井久雄 (2007)「染色体サイクル:複製,分配,組換え,修復・クロマチン制御のメカニズムとその異常による疾患」序文 実験医学 増刊号(羊土社)
- 正井久雄、渡邊嘉典 (2007) 概論"染色体サイクル制御の分子メカニズム" 実験医学 増刊号「染色体サイクル」(羊土社) pp16-23.
- You Zhiying,正井久雄 (2007) "MCM タンパク質の DNA 複製における役割" 実験医学増刊号「染色体サイクル」(羊土社) pp37-41.
- 正井久雄、松本清治 (2007) "Cdc7 キナーゼによる複製フォーク制御" 実験医学増刊号「染色体サイクル」(羊土社) pp78-85.
- 正井久雄 (2007) 生化学辞典 (分担) 第 4 版 東京化学同人

- 田中卓、正井久雄 (2007) "Southwestern 法" 「分子間相互作用解析ハンドブック」(羊土社) pp160-163.
- You Zhiying、正井久雄 (2007) "UV クロスリンキング法" 「分子間相互作用解析ハンドブック」(羊土社) pp164-167.
- 阪上-沢野朝子、正井久雄、宮脇敦史 (2008) 細胞周期をリアルタイムに可視化する技術. 実験医学、増刊号「生命現象の動的理解を目指すライブイメージング」(宮脇敦史 編集) 26, 148-155, 羊土社
- 正井久雄 (2008) 序 DNA複製研究の過去、現在、未来. 細胞工学「細胞増殖とゲノム安定性維持のかなめ、DNA複製のメカニズム解明に迫る、(正井久雄 編集) 27, 962-966, 秀潤社
- 加納豊、正井久雄、白髭克彦 (2008) DNA複製開始と進行のゲノムワイドのプロファイル解析. 細胞工学「細胞増殖とゲノム安定性維持のかなめ、DNA複製のメカニズム解明に迫る」(正井久雄 編集) 27, 1008-1012, 秀潤社
- 正井久雄 (2009) 序 蛋白質核酸酵素 増刊号「染色体サイクル」(正井久雄、升方久夫、釣本敏樹、仁木宏典、篠原彰 編集)、pp307、共立出版
- 正井久雄 (2009) 序論 染色体サイクルの基礎. 蛋白質核酸酵素 増刊号「染色体サイクル」(正井久雄、升方久夫、釣本敏樹、仁木宏典、篠原彰 編集)、pp311-316、共立出版
- 正井久雄 (2009) 染色体サイクルの連係的制御機構 概論 蛋白質核酸酵素 増刊号「染色体サイクル」(正井久雄、升方久夫、釣本敏樹、仁木宏典、篠原彰編集)、 pp521-523、共立出版
- 正井久雄 (2009) Cdc7キナーゼによる染色体サイクル制御. 蛋白質核酸酵素 増刊号「染色体サイクル」(正井久雄、升方久夫、釣本敏樹、仁木宏典、篠原彰編集)、 pp524-530、共立出版
- 正井久雄 (2009) S期開始、進行の制御と疾患. 炎症と免疫、pp21-28、先端医学社
- 阪上-沢野朝子、正井久雄、宮脇敦史: 細胞周期を時空間的に可視化する技術.細胞工学、「細胞周期研究の新たなステージ」(岸本建雄 編集) 28, pp14-21、秀潤社
- 阪上-沢野朝子、正井久雄、宮脇敦史 (2009) 細胞周期を時空間的に可視化する技術.最新医学 増刊号「幹細胞研究の最近の進歩」、pp698-701、最新医学社
- 阪上-沢野朝子、正井久雄、宮脇敦史 (2010) 細胞周期の時空間的解析.「細胞周期フロンティア」(佐方功幸、稲垣昌樹、岸本健雄 編集)、pp29-35、共立出版
- 正井久雄 (2010) なぜ親子は似るの? 「なぜなぜ生物学」(MBSJ 日本分子生物学会編)、pp31-45、東京化学同人
- 正井久雄 (2010) 生物学辞典 (分担) 東京化学同人
- 早野元詞、加納豊、松本清治、正井久雄 (2012) テロメア結合因子 Rif1 は、染色体複製タイミングを決定する 細胞工学 31、pp460-462、秀潤社 (査読無)
- 山崎 聡志、正井 久雄 「Rif1 タンパク質はヒトゲノム複製タイミングドメイン

- を決定する。」実験医学、Current Topics 30、pp 2974-78. 2012 羊土社 (査読無)
- 加納 豊、松本 清治、正井 久雄 「RifI はグアニン 4 重鎖構造を介して染色体に結合し、広範囲に複製を抑制する」カレントトピックス 実験医学 羊土社 (2015) (査読無)
- 加納 豊、松本 清治、正井 久雄「RifI はグアニン 4 重鎖構造を形成する DNA を介して染色体へ結合し複製の開始を広範囲にわたり抑制する」ライフサイエンス 新着論文レビュー 2015 年 11 月 4 日公開
<http://first.lifesciencedb.jp/archives/11870> (査読無)
- 正井 久雄「多様な染色体ダイナミクスの modulator kinase, Cdc7」雑誌 生化学 第 5 号 pp719-730. (2017) (査読有)
- 正井久雄 微生物のゲノム複製のストラテジー：ーレプリコン仮説再考 私物と科学 遺伝 No.04 pp375-381 2018
- 正井久雄 岡崎フラグメント発見 50 周年 DNA 複製研究の歴史と最前線 現代化学 Vol.582 pp65-67. (2019) (査読有)

その他の活動

雑誌編集

- 自平成 21 年 4 月 至現在 Editorial Board Member, Journal of Biological Chemistry (2009~2013)
- 自平成 21 年 4 月 至現在 Associate Editor, Genes to Cells (2009~Present)
- 自平成 22 年 4 月 至平成 24 年 3 月 Advisory Board, Journal of Biochemistry (2010~2011)
- 自平成 22 年 4 月 至現在 Editorial Board Member, World Journal of Biological Chemistry (2010~Present)
- 自平成 18 年 4 月 至現在 Associate Editor, Journal of Biochemistry (Tokyo) (2006~Present)
- 自平成 10 年 4 月 至平成 13 年 3 月 Editorial Board Member, Journal of Biochemistry (Tokyo) (1998-2001)
- 自平成 12 年 3 月 至現在 Editor, Frontiers in Bioscience (1995-Present)
- 自平成 23 年 至現在 Faculty1000 member (2011~Present)
- 自平成 25 年 至現在 Editor, Biochemical and Biophysical Research Communications (2013~Present)