

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 6 日現在

機関番号 : 63801
研究種目 : 基盤研究 (B)
研究期間 : 2008~2011
課題番号 : 20370005
研究課題名 (和文) 真核細胞染色体 DNA 複製開始の分子機構の解析
研究課題名 (英文) Analysis of the molecular mechanism of the initiation of chromosomal DNA replication in eukaryotes

研究代表者
田中 誠司 (TANAKA SEIJI)
国立遺伝学研究所・細胞遺伝研究系・助教
研究者番号 : 50263314

研究分野 : 生物学

科研費の分科・細目 : 基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード : DNA 複製、CDK、細胞周期、複製開始

1. 研究計画の概要

真核細胞の染色体 DNA 複製は、一回の細胞分裂周期につき一度だけ過不足なく起きるように厳密な制御を受けている。細胞は、1) S 期に染色体 DNA 複製を開始させる活性と、2) 染色体 DNA の再複製を阻止する活性を巧妙に組み合わせることで、この制御を成立させている。これらのうち、本研究では「染色体 DNA 複製の開始反応」を分子レベルで理解することを目指す。具体的には以下の3点について解析を進めてゆく。(1) Sld2, Sld3, Dpb11 の役割、(2) Cdc45, GINS 複合体の役割、(3) Sld3 オーソログの探索。

2. 研究の進捗状況

(1) 真核細胞の細胞周期の G1 期に複製前複合体 (pre-RC) が形成されて準備を整え、S 期に入ると pre-RC が活性化され (複製開始)、複製フォークが形成される。これらの反応が同時に起きると、染色体 DNA の再複製が起きるため、これらの反応は細胞周期中で完全に分離しておかれている。G1 期に形成された pre-RC が S 期に入る前に時期尚早に、活性化されないようにしている機構を解析したところ、CDK のターゲットである Sld2, Sld3、さらに Dpb11 という複数の因子が重複して制御されており、それらのうちどれかでも破綻すると染色体の不安定化が起きることが分かった。細胞は複数の制御系を持つことで非特異的複製開始を抑え、ゲノムを安定に維持していることがわかった。

(PLoS Genetics (2011), in press)

(2) Cdc45, GINS 複合体は、複製時に 2 本鎖 DNA を巻き戻すヘリカーゼのサブユニットとなっていることが観察されている。

Cdc45 は Sld3 と相互作用し、この相互作用が、活性型ヘリカーゼへの組み込みに重要な働きをしていると考えられる。GINS 複合体について、これまでの解析から、Dpb11 が Sld2, Sld3 以外にも GINS と異なる部分で相互作用し、この相互作用部位が複製開始に必須の役割を持つことが分かってきた。さらに、この部位が他の真核生物でも保存されている可能性を見いだした。この可能性を他のシステムを用いて検証してゆく。(論文投稿準備中)

(3) Sld3 の高等動物でのオーソログ同定は、熾烈な競争となっており、本研究開始以降、スクリーニングを行い、いくつかの候補を得ていたが、その間にも多くの研究室から脊椎動物での Sld3 オーソログ候補因子について、いくつかの報告がこれまでにあった。それらのうち、Treslin/Ticcr がいくつかの観点から Sld3 オーソログであるようであり、さらにこのことを示すような報告が現在もどんどん蓄積中である。このような情勢から、当初計画していた Sld3 オーソログ探索を中止し、その代わりに、我々の研究室でごく最近見いだした Sld7 のオーソログの探索を新たに開始した。Sld7 は複製開始に必須ではないが、Sld3 と協調して、複製開始に役割を持つ。Sld7 オーソログは、分裂酵母をはじめとする他のモデル真核細胞で BLAST 検索などのホモロジーサーチでは発見できない。生化学的な手法を用いた探索の結果、これまでに、Sld7 オーソログ候補を分裂酵母より単離することに成功した。現在はこの新規因子が実際に複製開始過程において役割を持つかどうかを検討している。

3. 現在までの達成度

自己評価：おおむね順調に進展している
研究課題を申請した時に、課題達成のための具体的な研究計画として、大きく分けて3点の計画を提案した。上記「研究の進捗状況」に記したように、ある程度の紆余曲折はあったものの、どのプロジェクトも現在は成果を上げ、論文となったもの、論文投稿レベルにまだ達したものの、今後の展開に期待がかかるもの、と順調に発展してきたと考えられる。

4. 今後の研究の推進方策

おおむね当初の研究計画通り研究を進め、研究目的の達成を目指す。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1. Tanaka, S. and Araki, H. (2011) Multiple Regulatory Mechanisms to Inhibit Untimely Initiation of DNA Replication Are Important for Stable Genome Maintenance. PLoS Genetics, in press. 査読有り

2. Tanaka, S. and Araki, H. (2010) Regulation of the initiation step of DNA replication by cyclin-dependent kinases. Chromosoma 119, 565-574. 査読有り

3. 田中誠司、荒木弘之 (2009). 真核細胞の細胞周期制御機構と染色体 DNA 複製. 遺伝 63: 51-58. 査読無し

4. 田中誠司、荒木弘之 (2008). 真核細胞染色体DNA複製開始反応とCDKによる制御. 細胞工学 27: 985-991. 査読無し

[学会発表] (計26件)

1. Tanaka, S. and Araki, H. (2010) How early-firing origins are determined in budding yeast. 2010 FASEB Summer Research Conferences "Yeast Chromosome Structure, Replication & Segregation", at Carefree, AZ. USA.

2. Tanaka, S. (2010) Cdc7-Dbf4 kinase specifies early replication origins by regulating the association of low-abundant replication initiation factors in budding yeast. 2010 3R (Replication, Recombination & Repair) Symposium, at Toyama.

3. Tanaka, S. (2010) Multiple regulatory mechanisms of the initiation of DNA

replication are important for stable genome maintenance. International Conference on Radiation and Cancer Biology at Nagasaki 2010, at Nagasaki.

4. Tanaka, S. and Araki, H. (2009) Multiple regulatory mechanisms of the initiation of DNA replication are important for stable genome maintenance. Cold Spring Harbor Meeting "Eukaryotic DNA Replication & Genome Maintenance", at Cold Spring Harbor, NY. USA.

5. Tanaka, S. and Araki, H. (2008) Periodic expression of Sld2 is important for DNA replication and genome integrity. 2008 FASEB Summer Research Conferences "Yeast Chromosome Structure, Replication & Segregation", at Carefree, AZ. USA.

[その他]

ホームページ:

<http://www.nig.ac.jp/labs/MicGen/index.html>