



Title	The Role of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> DNA Polymerase ϵ in Chromosomal DNA Replication
Author(s)	奥村, 知子
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43583
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	おく むら とも こ 奥 村 知 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 7 7 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	The Role of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> DNA Polymerase ϵ in Chromosomal DNA Replication (出芽酵母 DNA ポリメラーゼ ϵ の染色体 DNA 複製における役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 杉野 明雄 (副査) 教 授 滝澤 温彦 教 授 升方 久夫

論 文 内 容 の 要 旨

構造や機能が異なった 3 種の DNA ポリメラーゼ α , δ , ϵ (Pol α , Pol δ , Pol ϵ) が、出芽酵母の染色体 DNA 複製に必須である。Pol α は Leading 鎖合成開始と岡崎フラグメントの合成開始に関与し、Pol δ と Pol ϵ は Leading 鎖と Lagging 鎖の合成に関与すると言われているが、その役割はほとんど明らかにされていない。本研究では、Pol ϵ の細胞内での DNA 合成における役割を詳細に調べるため、Pol ϵ のポリメラーゼドメインと 3'-5' エキソヌクレアーゼドメインを欠失している *pol2-16* 変異株を用いて解析をおこなった。*pol2-16* 株は Pol ϵ のポリメラーゼドメインを欠失しているにもかかわらず、生育可能であると報告されている。

pol2-16 株は野生株と比較して細胞周期の長さが約 3 倍に伸び、特に S 期への進入、進行ともに遅れがみられた。また S 期チェックポイント制御は正常であるが、HU に対する感受性より、*pol2-16* 株の生育が悪くなるのはポリメラーゼ活性の低下によることが示唆された。

細胞の寿命を測定したところ、*pol2-16* 株では平均約 5 世代で分裂できなくなることが分かった。また *pol2-16* 株の細胞の最終形態は、野生株と比較して dumbbell 型の細胞の割合が高いことが確認された。これより *pol2-16* 株では、複製の過程で何らかの異常が生じて細胞の老化が早まっていると考えられる。さらにテロメアの長さについて調べたところ、*pol2-16* 株では野生株と比較してテロメアが短くなっていることが明らかになった。一方、Pol α , Pol δ の変異株ではテロメアは野生株より長くなっていた。これより、Pol ϵ と Pol α , Pol δ がそれぞれ Leading 鎖と Lagging 鎖を分担して DNA 合成をおこなっていると予想される。

2 次元アガロースゲル電気泳動法を用いた解析より、*pol2-16* 株では野生株と比較して複製開始点の firing の遅れがみられた。さらに CHIP assay を用いた解析より、Pol ϵ は複製開始点に結合する活性は残っているが、その後の複製フォークと共に移動する活性を失っていることが示唆された。

Pol ϵ が DNA ポリメラーゼの校正機能だけではなく、ミスマッチ修復に関与している可能性が考えられたため、自然発生突然変異率を測定した。Pol ϵ , Pol δ のエキソヌクレアーゼ活性のみをもたない変異株では変異率は野生株と比較して上昇するが、*pol2-16* 株では野生株と同程度であった。これより、Pol ϵ のポリメラーゼ活性はミスマッチ修復に関与していないことが示された。一方、*pol2-16* 変異と Pol δ の触媒サブユニットをコードする *POL3(CDC2)* の温度感受性変異との二重変異株はすべて致死となった。さらに Pol δ の 3 番目のサブユニットをコードする *POL32* の破壊株との二重変異株も致死となった。以上より、Pol ϵ は Pol δ と協調して DNA 合成をおこなっていることが

考えられる。

以上の結果は、通常の効率の良い正確な染色体 DNA 複製には Pol ϵ のポリメラーゼ活性が必須であり、Pol ϵ と Pol δ が機能分担して DNA 合成をおこなっていることを強く示唆している。

論文審査の結果の要旨

出芽酵母 Pol ϵ のポリメラーゼ活性が染色体 DNA 複製に必須であるかを知るために、ポリメラーゼドメイン欠損株を用いて解析を行なった結果、変異株で生育、複製において多くの異常がみられたことより、効率良い正確な DNA 複製にはポリメラーゼドメインが必須であると示唆された。これは Pol ϵ の catalytic な機能を詳細に調べた初めての研究であり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。