The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Isolation of slm (synthetically lethal with mcm10-1) mutations and their functional analysis in Saccharomyces cerevisiae
Author(s)	荒木, 義雄
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44070
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	荒　木　義　雄（あらき　よしお）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　17541　号
学位授与年月日	平成15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	Isolation of *slm* (synthetically lethal with *mcm10-1*) mutations and their funcional analysis in Saccharomyces *cerevisiae* **（出芽酵母 *mcm10-1* 変異と合成致死性を示す *slm* (synthetically lethal with *mcm10-1*) 変異の分離とそれらの遺伝子群の機能分析）**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　杉野　明雄 （副査） 教　授　品川日出夫　　教　授　野島　博

論　文　内　容　の　要　旨

膨大な遺伝情報を極めて正確に、未複製領域や過剰に複製された領域を生ずることなく、S 期における限られた時間の中で速やかに複製するために、真核生物はその忠実性と効率を高めるための種々の機構を有している。出芽酵母をはじめとする真核生物染色体 DNA 複製の開始は、M 期から G1 期にかけて、複製開始領域に ORC（Origin Recognition Complex）、Cdc6、Cdt1、Mcm2-7 などのタンパク質から構成される Pre-RC (Pre-Replicative Complex) が形成され、その後に CDK（Cyclin dependent kinase）と DDK（Dbf4 dependent kinase）による Pre-RC の活性化と、Cdc45、Sld3、Sld2、Dpbl1 タンパク質、DNA ポリメラーゼなどの因子が複製開始領域に結合することが必要であると考えられている。複製開始後は、複製開始領域から Cdc6、Cdt1、Mcm2-7 などのタンパク質が解離し、Pre-RC から Post-RC（Post-Replicative Complex）への劇的なクロマチン構造の変化がおこり、これが再複製を防ぐ機構の一つとなっている。

Mcm10 タンパク質は、真核生物において酵母からヒトまで広く保存されており、染色体 DNA 複製に必要な因子である。出芽酵母高温感受性変異株 *mcm10-1* は非許容温度下においてダンベル型、2C の不分離核で生育を停止する。また、許容温度においても複製開始頻度の低下がみられるとともに、複製開始部位の活性化が起こらなかった ARS 近傍において複製フォークの進行が阻害される。また、初期複製開始点が活性化された後、非許容温度に移すと DNA 複製が完結しないことが知られている。

本研究では、*MCM10* と機能的に相互作用している因子を単離し、Mcm10 タンパク質のより詳細な機能を理解することを目的に、*mcm10-1* 変異と合成致死性を示す *slm* (synthetically lethal with *mcm10*) 変異の分離をおこなった。その結果、7 つの *slm* 変異株が分離され、*slm 1*～*6* の相補群に分けられた。これらの *slm* 変異は複製開始から複製フォークの伸長過程に関わる *MCM2*、*MCM7*、*CDC45* 遺伝子の変異 *slm3*、*slm4*、*slm5* と、DNA 傷害剤に対して感受性を示す *DNA2*、*SLM2*、*SLM6* 遺伝子の変異 *slm1*、*slm2*、*slm6* の二つのグループに分類できた。*mcm2*、*mcm7*、*cdc45* 変異と *mcm10-1* 変異が合成致死性を示すのは、Mcm10 タンパク質が複製開始因子としてこれらの因子と互いに協調し、複製開始において重要な機能を果たしているためと考えられる。次に、*mcm10* 変異株の生存にとって必要とされる Dna2 タンパク質の機能を知る目的で、既存の温度感受性、MMS 感受性を示す *dna2* 変異株と

mcm10-1 との合成致死性を調べたところ、MMS 感受性と合成致死性に強い相関がみられた。次に、*SLM2* と *SLM6* の DNA 修復における機能についてあらたな知見を得るために、既知の修復関連遺伝子との関連性を解析した。その結果、*SLM2* と *SLM6* は同じ修復経路に属し、これまでに知られているヌクレオチド除去修復経路（*RAD3* 経路）、複製後修復経路（*RAD6* 経路）、および組換え修復経路（*RAD52* 経路）とは別の経路に属することがわかった。

以上の結果から、*mcm10-1* 変異株の中で起こっている複製フォークの進行阻害を *SLM2* や *SLM6* あるいは *DNA2* が解消してゲノムの不安定化から細胞を守っていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

Mcm10 タンパク質は、真核生物において酵母からヒトまで広く保存されており、染色体 DNA 複製に必要な因子である。本研究では、Mcm10 タンパク質のより詳細な機能を理解することを目的に、mcm10-1 変異と合成致死性を示す slm (synthetically lethal with mcm10) の変異の分離をおこなった。その結果、7 つの slm 変異株が分離され slm1～6 の相補群に分けられた。これらの slm 変異は複製開始から複製フォークの伸長過程に関わる MCM2、MCM7、CDC45 遺伝子の変異 slm3、slm4、slm5 と、DNA 傷害剤に対して感受性を示す DNA2、SLM2、SLM6 遺伝子の変異 slml、slm2、slm6 の二つのグループに分類できた。第一のグループの変異株の単離は、Mcm10 タンパク質が複製開始領域において Mcm2-7、ORC、そして Cdc45 タンパク質と相互作用しているというこれまでの結果を遺伝学的に支持するものである。一方、DNA 複製の進行を阻害する HU や DNA 傷害剤 MMS に感受性を示す第二のグループの DNA2、SLM2、SLM6 遺伝子の変異の単離は、mcm10-1 変異株の中で起こっている複製フォークの進行阻害を SLM2 や SLM6、あるいは DNA2 が解消することによってゲノムの不安定化から細胞を守っている新しい機構を明らかにしたもので、博士（理学）の学位論文として十分価値があると認める。