

研究課題	複製起点上の 2 分子の Mcm2-7 同時活性化メカニズムの解明 ーDNA ヘリカーゼ活性化と複製タイミング制御の関係ー
キーワード	①DNA 複製、②複製効率、③分裂酵母

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	オガワ シホ 小川 志帆
配付時の所属先・職位等 (令和 6 年 4 月 1 日現在)	関西学院大学 生命環境学部 講師
現在の所属先・職位等	関西学院大学 生命環境学部 講師
プロフィール	学生時代より、遺伝情報が収納されている核内で起こるさまざまな現象に強い関心を抱いてきました。学位取得後は 2 人の子どもに恵まれましたが、仕事と研究の両立は困難であると感じ、彼らが小学生になるまでの約 8 年間は育児に専念する道を選びました。子どもたちと一緒に泣き、笑い、共に過ごしたこの「充電期間」は、私にとって貴重な経験となり、現在では学生の指導や研究生活における困難すら前向きに捉えて楽しめる心の余裕へとつながっています。一度研究から離れると復帰は難しいとよく言われますが、幸運にも温かく迎え入れてくださった先生方のおかげで、現在も自分が情熱を注いできた DNA に関する研究を続けることができます。

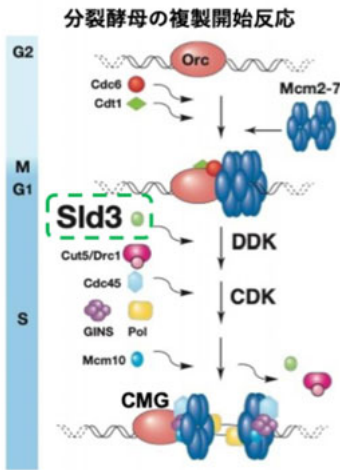
1. 研究の概要

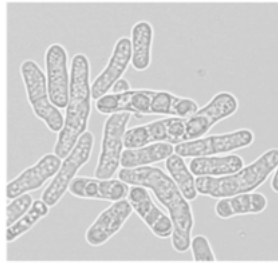
本研究は、申請者が独自に見出した Sld3 の自己相互作用によるホモ二量体化が、DNA 複製開始制御において果たす分子機構を明らかにすることを目的とした。そのために、自己相互作用領域を欠損させたことにより二量体形成能を喪失した Sld3 変異体を用い、DNA 複製開始に対してどのような影響を及ぼすのかについて詳細に解析した。

2. 研究の動機、目的

DNA 複製は細胞周期の S 期に行われるが、その前段階として、複製起点に不活性型の DNA ヘリカーゼ複合体 Mcm2-7 が 2 分子結合し、種を超えて保存された複製因子群の協働により活性型 CMG ヘリカーゼへと変換される。この変換過程は「複製開始反応」と呼ばれ、2 分子の Mcm2-7 が同時活性化されることが不可欠である。

Sld3 は、このプロセスの最初のステップを担っている複製因子であり、分裂酵母を用いた申請者の先行研究では、自己相互作用領域を介してホモ二量体を形成すること、Sld3 の二量体化は構造変化を伴って複製因子としての機能が発揮されること、さら





胞子を形成した分裂酵母

にこの機構が Sld3 分子数の制御にも関与することを明らかにしてきた。(Tanaka & Ogawa, 2022, *Biology*)。

また、DNA 複製開始には「複製タイミング」と呼ばれる制御機構も存在する。Sld3 の細胞周期特異的リン酸化酵素 CDK によるリン酸化がその制御に関わっていると考えられているが、酵母からヒトに至るまで保存されたこの制御機構の生物学的意義は未解明である。したがって、本研究では、Sld3 のホモ二量体形成が、Mcm2-7 の同時活性化および複製タイミングの制御にどのように関与しているのかを検討し、Sld3 が有する多面的な機能の解明を目指した。

3. 研究の結果

3-1. Sld3 のホモ二量体化と Mcm2-7 の同時活性化

Sld3 の自己相互作用によるホモ二量体化が、DNA 複製開始制御においてどのような役割を果たしているのかを明らかにするために、二量体形成能を欠失した 2 種類の Sld3 変異体（自己相互作用領域である N 末端を大きく欠損した変異体 sld3 Δ N、および致死性を示す点変異体）を作製し、これらの表現型を解析した。

- sld3 Δ N 株では、DNA 複製の遅延が認められたものの、生存には大きな影響を及ぼさなかった。
- 複製阻害剤ヒドロキシウレア (HU) を用いた感受性解析において、sld3 Δ N 株は 3 μ M および 5 μ M の HU に対して感受性を示し、複製ストレスへの耐性が低下していることがわかった。
- 温度感受性を持った sld3-9A 株（9 箇所のリン酸化部位をアラニンに置換）に対する補完実験では、野生型 Sld3 はその高温感受性を完全に回復させたのに対し、sld3 Δ N は部分的な補完にとどまった。

これらの結果から、自己相互作用領域である N 末端の欠損により Sld3 機能が部分的に損なわれ、複製起点上の 2 分子の Mcm2-7 の同時活性化に支障をきたしていることが示唆された。

3-2. 自己相互作用欠損の複製タイミングへの影響

Sld3 の自己相互作用の欠損が Mcm2-7 への結合能にどのような影響を及ぼすのかを検証するため、タグを付加したタンパク質を用いたクロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析を実施した。点変異体 Sld3 は致死性を示すため、同時に野生型 Sld3 も発現する株を使用している。

- sld3 Δ N は、Mcm2-7 との結合能は維持されていると考えられた。
しかしながら、野生型と同様の結合能を有しているかどうかは、今後の検討課題である。
- 自己相互作用を欠損し致死性を示す点変異体は、Mcm2-7 上への結合が全く認められなかった。
- また、野生型 Sld3 の複製タイミングの異なる複製起点上への結合に変化は認められなかった。したがって、点変異体発現による複製タイミングへの影響はないと考えた。

以上の結果は、Sld3 の自己相互作用が Mcm2-7 への安定的な結合に不可欠であること、そしてその機能喪失が細胞の生存に重大な影響を及ぼすことを示唆している。

4. 研究者としてのこれからの展望

近年、試験管内での DNA 複製再構築系の確立により、DNA 複製に関する知見は飛躍的に進展したが、細胞内環境における事象には未解決の問題が依然として多く残されている。日本は古くから DNA 複製の分野では世界に先駆けた研究がなされてきたが、近年、その研究者数は減少傾向にある。申請者は、本分野における未解決の課題があるかぎり、それに挑み続ける必要があると認識している。

本研究により得られた新たな知見は、現在、論文として投稿準備を進めている段階にある。これらの成果は、DNA 複製の普遍的メカニズムの理解に貢献すると期待される。今後も、DNA 複製という生命維持の根幹に関わる研究を継続し、人類に貢献し得る新たな知見の創出とその発展を目指していく所存である。



本研究成果を第96回日本遺伝学会（高知）で発表した後の市民講座（牧野植物園）にて

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

このたびは、私の研究活動に温かいご支援を賜り、誠にありがとうございました。

私は、生命が繋がって行くうえで欠かせない「DNA の複製」という仕組みについて研究を行っています。細胞が分裂して新しく生み出されるとき、正確に DNA をコピーする必要があります。この過程がうまくいかないと、病気の原因になったり、細胞の働きが乱れたりします。

今回の研究では、「S1d3（エスエルディースリー）」というタンパク質が、自分自身と結合して二つ一組になることで、DNA 複製のスタートを助けているという仕組みを詳しく解析しました。私たちは、この「くっつく力（自己相互作用）」を失わせた特別な S1d3 を使って、どのように複製が乱れるのかを調べました。その結果、この働きがないと、DNA のコピーが遅れたり、細胞がストレスに弱くなったりすることがわかりました。

この研究を通じて、生命の仕組みのひとつに隠された「ちいさな工夫」が見えてきました。そして、それがうまく働かないときに起きるトラブルが、病気や老化の原因につながるかもしれない、という可能性も見えてきました。

研究の成果は、現在、論文としてまとめているところです。将来、病気のメカニズムの解明や、新しい治療法の開発につながっていくことを願いながら、私たちは日々研究を続けています。

支援者の皆さまのご協力により、このような一步を踏み出すことができました。本当にありがとうございます。これからも、目には見えにくいけれど大切な「いのちのしくみ」を明らかにする研究を進めていきたいと思います。今後とも、温かいご支援をよろしくお願い申し上げます。