

パン酵母(Saccharomyces cerevisiae)の自律複製領域ARA1と相互作用するタンパク質因子に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kuno, Koji メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/14764

学位授与番号	医博甲第918号
学位授与年月日	平成元年9月30日
氏名	久野 耕 嗣
学位論文題目	パン酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) の自律複製領域 ARS 1 と相互作用するタンパク質因子に関する研究
論文審査委員	主 査 久 野 滋 副 査 原 田 文 夫 福 田 龍 二

内容の要旨および審査の結果の要旨

下等真核生物であるパン酵母のDNA複製は、他の真核生物と同様に、染色体DNA上の多数の起点から始まり、その数は1倍体細胞当たり約150個である。これらの複製開始点は自律複製起点 (autonomously replicating sequence, ARS) と呼ばれる。このARSを持つプラスミドはパン酵母細胞内で自律的に複製されるが、その機構の詳細はまだ不明である。著者はこの複製開始機構を明らかにする目的で、パン酵母第4染色体上にあるARS1領域と相互作用するタンパク質因子について検討した。ARS1領域を含む97bpのDNA断片 (K49) をプローブとして、これと特異的に結合するタンパク質因子をゲルシフト法で調べた。パン酵母の核抽出液をクロマトグラフィーで部分的に精製した画分を用いると、K49プローブと結合したバンドが3～4個検出された。この結合はpBR322等のDNAで競合されず特異的なものであったが、意外なことにK49 DNAを熱変成して一本鎖DNAにすると、この結合活性は著しく増強された。このK49一本鎖DNAとの結合も特異的で、且ARS一般に共通として見られる約10ヌクレオチドのコンセンサス配列を含む30ヌクレオチドの⊖鎖 (C6) によって強い競合を受けた。更にC6 DNAをプローブとして用いると、このプローブと結合したバンドが2本検出される。この結合はC6 DNAと塩基配列上類似性のない種々のオリゴヌクレオチドによって全く競合を受けなかった。しかしながら上記の2本のバンドが異なったタンパク質因子によるものか否かの同定は出来なかった。

以上の結果から、ARS1のコンセンサス配列を含む⊖鎖に特異的に結合するタンパク質因子が存在すると結論された。従来からARSのコンセンサス配列は、ARSを含むプラスミドの複製に必須と信ぜられていたが、この領域に特異的に結合するタンパク質因子として初めての報告である。

著者は更にK49の⊕鎖にも結合するタンパク質因子の可能性を考え、該当する部の36塩基のオリゴヌクレオチド (C5) を合成し、プローブとして用いた所、このC5と特異的に結合するタンパク質因子の存在も証明できた。

以上の研究は酵母におけるDNA複製の開始に一本鎖DNAに特異的に結合するタンパク質因子の関与を強く示唆するもので真核生物の染色体複製の機構の解明に重要な知見を与えるものと評価された。