九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Human CTF18-RFC complexed with DNA polymerase ε loads PCNA efficiently and maintains the DNA synthesis

藤澤, 遼

https://doi.org/10.15017/1931744

出版情報：九州大学, 2017, 博士（理学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：

（様式６－２）

氏　　名	藤澤　遼
論　文　名	Human CTF18-RFC complexed with DNA polymerase ε loads PCNA efficiently and maintains the DNA synthesis（ヒト DNA ポリメラーゼ ε と結合した CTF18-RFC による PCNA ローディングはその DNA 合成の継続に寄与する）
論文調査委員	主　査　　九州大学　　教授　　釣本　敏樹 副　査　　九州大学　　教授　　藤田　雅俊(薬学府) 副　査　　九州大学　　准教授　　高橋　達郎

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

真核生物の DNA スライディングクランプ PCNA は primer-template DNA 構造の 3′-プライマー末端に ATPase 活性を持つ主要装着因子（ローダー）複合体 RFC によって装着される。この PCNA は DNA 複製そのものだけでなく DNA 複製と連動した DNA 損傷修復、クロマチン再構築、姉妹染色体接着、細胞周期制御など種々の機能因子の DNA 上での足場として必須の役割を果たす。PCNA ローダーには RFC に加えて二次的な複合体 CTF18-RFC が存在する。両者は共に DNA 複製に寄与することが示されているが、それらの機能分担の仕組みは不明である。ゲノム DNA の複製において DNA ポリメラーゼ ε（Pol ε）はリーディング鎖を、DNA ポリメラーゼ δ（Pol δ）はラギング鎖を主に合成すると考えられている。これまでに CTF18-RFC と Pol ε が特異的に結合し、その結合がゲノムの安定性維持に重要であることが報告されている。本研究では精製タンパク質を用いて両者の結合が PCNA のローディング、DNA 合成にどのような機能を持つかを解析した。

まず、CTF18-RFC 単独では通常の DNA 複製が起こる状態を反映した生理的イオン濃度、一本鎖 DNA 結合タンパク質 RPA が存在する条件では、RFC と比べて非常に低い PCNA ローディング活性しか持たなかった。しかし Pol ε が存在すると、このような条件下でも活性が維持されたことから、CTF18-RFC は Pol ε と複合体になって機能する PCNA ローダーであることを明らかにした。さらに 3′-プライマー末端とその鋳型側に Pol ε が安定に結合し、それを鋳型とする CTF18-RFC が PCNA ローディング時に一時的に Pol ε と入れ替わることが示された。この Pol ε -CTF18-RFC 複合体状態での PCNA ローディングは Pol ε の非 DNA 合成状態でみられたものであるが、Pol ε の DNA 合成中の状態を再現した状態に置くと抑えられることがわかった。さらに Pol ε の DNA 合成と CTF18-RFC による PCNA ローディングを連動させた場合、高い効率の DNA 合成が見られた。これらの結果から、Pol ε -CTF18-RFC 複合体では、Pol ε の DNA 合成モードを CTF18-RFC がモニターし、Pol ε の DNA 合成に不都合が生じたタイミングで速やかに新たな PCNA をローディングして DNA 合成を維持するしくみがあることが示された。

以上より、真核生物の染色体複製においては、CTF18-RFC と Pol ε が複合体となって PCNA 装着を行い、これを介して効率の良いリーディング鎖合成が行なわれるという新しい機構を明らかにした。また不連続に行なわれるラギング鎖側に多数の PCNA が装着されるのに対して、リーディング鎖側には PCNA がほとんど装着されないという PCNA 装着のパラドクスが存在したが、Pol ε -CTF18-RFC 複合体によってリーディング鎖側にも積極的に PCNA が装着されることを初めて明ら

かにした。

以上の結果は、真核生物複製の分野でリーディング鎖合成の新たな機構を明らかにしただけでなく、複製された 2 本の姉妹 DNA 上の PCNA の分布に対する新しい知見を提供し、複製後の娘細胞のエピジェネティクス情報の維持機構の理解の上で重要な貢献をしたもので、価値ある業績であると認める。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文に値するものと認める。