

真核細胞の DNA 複製はどこまでわかったか

京都大学ウイルス研究所 村上洋太

転写と複製は DNA 上で起こる 2 大イベントである。現在、原核・真核細胞を問わず転写の研究は多くの研究者が取り組み急速な進展を見せるとともに、修復・細胞周期・分化と横にも大きな広がりを見せている。それに比べると複製の研究、特に真核細胞における複製開始とその制御の研究は遅れていた。本稿ではやっと複製の研究にも大きな飛躍のきざしが現れてきたということを紹介したい。

転写の制御については有名な Jacob と Monod のオペロン説がある。これに対応する複製制御のモデルとしてやはり Jacob らが提唱したレプリコン仮説がある。¹⁾この説では転写のオペロンに相当する複製の単位をレプリコンと呼ぶ。レプリコンは複製開始を制御する DNA 配列のレプリケーターとそれに結合する因子であるイニシエーターからなり、イニシエーターがレプリケーターに結合することで DNA 上の特定の場所、すなわち複製開始点（オリジン）から複製がはじまる。原核細胞やウイルスの DNA 複製は確かにこの仮説に当てはまり、レプリケーターとイニシエーターがそれぞれ見つかった。そしてほとんどすべての場合レプリケーターとオリジンは同じ DNA 領域に存在していた。では真核細胞にもこの仮説が当てはまりレプリケーターとイニシエーターが存在するのだろうか。その答えが、酵母を使った研究と複製開始点を同定するための新しい方法の開発によって見つかるかとしている。

出芽酵母 (*S. cerevisiae*) では古くからプラスミドとして自律複製能をもった DNA 断片が染色体からいくつも分離され、ARS (Autonomous Replicating Sequence) と呼ばれている。ARS は染色体のレプリケーターとオリジンを含んでいると考えられる。最近、後で述べる新しい方法を使い少なくとも一部の ARS が染色体上で実際にオリジン・レプリケーターとして機能していることが明らかになった。²⁾レプリケーターが見つかる次にはそこに結合するイニシエーターを見つけなくてはならない。出芽酵母の ARS には共通の DNA 配列が存在するが、これがイニシエーターの認識配列と考えられていた。そして Stillman らがついにこの共通配列に結合するタンパク質複合体を分離し ORC (Origin Recognition Complex) と名付けた。³⁾現在 ORC がイニシエーターそのものかその一部であることを示す直接の証拠はない。しかし間接的な証拠が蓄積しつつある。おそらく数年のうちに ORC を中心として出芽酵母の複製開始とその調節機構の解明は細胞周期調節の研究とオーバーラップして大きく展開するだろう。

ではヒトも含めた高等真核細胞でもレプリコン仮説は成り立つのだろうか。酵母とは異なり高等真核細胞ではそのゲノムの複雑さから、つい最近までどこがオリジンなのかさえはっきりとしていなかった。ところがこの 5 年ほどの間にオリジンをマップする新しい方法が次々と開発されて、高等真核細胞でもオリジンの同定が可能になった。その方法は 2 次元ゲルを用いて複製中間体を同定する方法や PCR を使って新しく合成された DNA の長さを決定する方法など多岐にわたっている。それぞれの方法の結果は必ずしも完全に一致するわけではないが、少なくとも DNA 上の一定の領域から複製が始まるという点に関してはまちがいない。⁴⁾

ところで、オリジンは複製が始まる場所という定義で物理的に決定されるが、レプリケーターは複製開始に必須の領域という遺伝的定義によって決まる。Kitsberg らはヒトのベータグロビン遺伝子近傍にレプリケーターを同定した。⁵⁾彼らはまずベータグロビン遺伝子領域にオリジンを同定した。次にこの領域に欠失を持つ遺伝病のヒト由来の細胞を使い、その欠失によってこのオリジンが機能しなくなることを発見した。つまり、この欠失している領域にレプリケーターが存在していることを示したのである。この発見によって高等真核細胞でもおそらくレプリコン仮説が当てはまり、さらに複製開始を制御するイニシエーターが存在するであろうことが確実になった。今後このイニシエーターの同定がもっともホットなプロジェクトになるだろう。

このように、やっと真核細胞の DNA 複製研究でも転写のように分子機構に踏み込んだ研究を開始できる基礎ができつつある。さらには転写研究のように細胞の分化や癌化といった問題にも広がりを見せることを複製の研究にたずさわる一人として期待したい。

1) Jacob, F. et al.: *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **28**, 329 (1963).

2) Brewer, M. and Fangman, W. L.: *Cell*, **51**, 463 (1987).

3) Bell, S. P. and Stillman, B.: *Nature*, **357**, 128 (1992).

4) Depamphilis, M. L.: *J. Biol. Chem.*, **268**, 1 (1993).

5) Kitsberg, D. et al.: *Nature*, **366**, 588 (1993).