

審査の結果の要旨

フィリップ オリヴィエ デジレ ロラン
氏名 PHILIPPE Olivier Désiré Laurent

本研究の目的は、高等動物細胞の個々の複製起点に結合した Cdk2 分子が、それぞれの複製開始を制御していることの証明である。そのため染色体を含む核内構造に結合した Cdk2 複合体（複製工場（RF）中の Cdk2 複合体）を抽出するための新たな方法を開発した。この方法を用いて Cdk2 複合体を分離し、S 期開始におけるその活性と複合体構成因子の変化を解析した。その結果は以下に示されたとおりである。

- 1) 核内構造に結合した Cdk2 の解析のための新たな生化学的細胞分画法を検討した。その結果細胞質および核質における可溶性因子を非イオン性界面活性剤 Triton X-100 処理により除去、その後沈殿分画を高濃度塩処理することにより Cdk2 を含む核内構造に結合した複合体を迅速に可溶化することに成功した。
- 2) 核内構造に結合した Cdk2 の調節サブユニットはサイクリン E2 ではなくサイクリン A2 であった。同時に 160 番目のスレオニンがリン酸化された Cdk2 のみが核内構造に結合していた。これらの結果は核内構造に結合した Cdk2 の活性とも相関していた。
- 3) 核内構造に結合した Cdk2 にはその制御因子である p21、Cdc25A、Cdk7 /サイクリン H なども結合しており、Cdk2 が活性制御されていることが示唆された。これはとりもなおさず RF 内での Cdk2 活性制御が個々の複製起点での DNA 複製を制御しているという可能性を支持する。

以上、本研究は高等動物細胞における S 期開始の制御機構を、個々の複製起点での Cdk2 の動態を観察することにより明らかにしようと試みたものである。Cdk2 の活性制御機構は詳細に検討されてはいるが、現在まで個々の Cdk2 分子の制御に配慮した研究はなされていなかった。個々の複製起点における Cdk2 の制御機構に注目した解析は、今後複製制御の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。