

論文審査の結果の要旨

氏名 宇野修司

本論文は3章からなり、第1章は Claspin の発現・精製、第2章は Claspin の生化学的解析、第3章は Claspin が MCM helicase に与える影響についてそれぞれ述べられている。

第1章では、ヒト細胞を用いて、タンパク質を低コストに、かつ分解の少ない形で高発現する新規な方法が書かれている。この方法を用いて、これまでに発現・精製が非常に困難であった全長ヒト Claspin タンパク質を相当に高い純度で精製することに成功している。また、この方法に用いられる Transfection 試薬は、siRNA オリゴの導入にも使用可能であると示されており、今後の研究に非常に有用である。

第2章では、精製した Claspin タンパク質を用いて、①DNA 結合性 ②Tim-Tipin 複合体が与える DNA 結合性への影響 ③他の DNA 複製関連因子との相互作用とその部位 ④Claspin タンパク質の Cdc7 依存的なリン酸化とその部位 についてそれぞれ述べられている。DNA 複製関連因子との、まだ報告のない細胞内相互作用が今回確認できているが、特に細胞周期の進行を司る Cdc7 kinase と Claspin のヒト細胞内相互作用は、今回の論文により明確なものとして示されている。また Cdc7 kinase による Claspin のリン酸化とその部位についての新たな知見が得られており、これらは G1/S 期に同調された細胞内から回収される Claspin タンパク質について、質量分析により決定されるリン酸化部位と一致している。DNA 複製ストレスに応答して Claspin はリン酸化されるが、そのリン酸化とは異なる位置のリン酸化であり、即ち DNA 複製フォークの進行自体を制御するメカニズムの一つであると示されている。

第3章では、精製 Claspin が MCM helicase と直接相互作用し、その機能を促進しているというデータが示されている。DNA 複製フォークに対する Claspin タンパク質の具体的な機能を示す初めてのデータである。

なお、本論文は論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。