

自己複製を制御する複製ライセンス化機構-ガン研究との接点



研究ノート

滝澤温彦*

Regulation of Self-Replication by Replication Licensing Mechanism

Key Words : replication licensing, self-replicating machine, chromosomal DNA replication, cancer cell, geminin switch

1. はじめに

生命とは何か? と考える時に、第一に頭に浮かぶ定義は自己複製する能力であろう。50年以上前にフォンノイマンは自己複製する機械の持つべき性質として設計図の重要性を指摘し、設計図をコピーして、これに従って機械を組み立てる万能工作機械があれば自己複製する機械が出来ると考えた(図1参照)。ゲノムプロジェクトの推進によりヒトの設計図も判ってきた時代に取り組みたい課題は、設計図に従って自己複製する機械を作る仕組みの解明であろう。良く解っている事だが、生き物を作るのは万能工作機械ではなく、設計図に従って作られた部品が自己集合する能力によってである。この仕組みの一端は、生命の設計図である染色体DNAのコピー(複製)を作

る最も重要な装置についてもかなり解ってきた。ここでは、これまで判っている自己複製を制御する機構について私たちの研究を含めて紹介し、このような一見応用と無関係に見える研究が、ガン研究と密接につながってきている現状を紹介したい。

2. 複製ライセンス化制御

細胞が増え続けるためには、設計図であるDNAのコピーを正確に作り、そのコピーを分裂する細胞に正確に分けることが必要である。コピーされるDNAは、ヒトで60億以上の塩基対から構成され、46本の染色体と呼ばれる物理的に区別できる単位に分かれ、さらに染色体あたり千に近い複製単位(replicon)ごとに10時間ほどかけて複製される。小さな単位に分けて複製する機構は、大量の情報を正確に能率良くコピーするために必要だったのであろう。しかしこのような機構で正確に設計図を倍にすることは、困難に見える。たとえてみれば、数万ページの本をランダムなページからコピーするとき、既にコピーしたページとまだコピーしていないページを区別して、コピーしていないページだけコピーしなければならないのである。複製ライセンス化とは、一度作ったコピーを分裂する細胞に分けるまでの間、再び複製されないようにすることを保証する機構である。その核心は、複製の許可-ライセンスは、細胞が分裂した直後に与えられ、複製が始まることでその許可が取り消されることにある。この機構はヒトも含め、真核生物で普遍的に保存されている。

ライセンス化に関わる部品、蛋白質因子はORC, Cdc6, Cdt1, MCMのたった4つしかない。すなわち、DNA上のコピー開始場所に結合して、開始を指示するORCと呼ばれる蛋白質と、ORCに依存して更に2つの因子、Cdc6, Cdt1が働くことでMCMと呼ばれる蛋白質

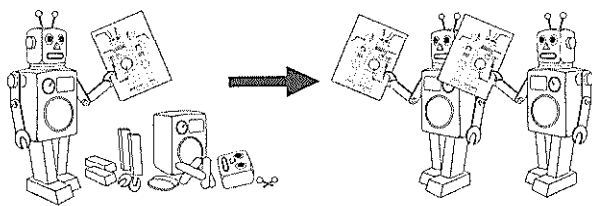


図1 自己複製機械と設計図



*Haruhiko TAKISAWA
1951年12月生
昭和54年大阪大学大学院理学研究科生理学専攻修了
現在、大阪大学大学院、理学研究科生物学専攻核機能学研究室、教授、理学博士、分子細胞生物学
TEL 06-6850-6762
FAX 06-6850-6762
E-mail : takisawa@bio.sci.osaka-u.ac.jp

複合体がコピー開始場所に結合する。このことが複製の許可を与える事になる。動物ではこれら因子に加えてジェミニンとよばれCdt1に結合してライセンス化を阻害する因子が見つかった。増殖している細胞で複製のライセンス-MCMの染色体DNAへの結合は、細胞分裂の終了時におこり、次の複製が始まると、完全に阻害される。このことがどのような機構で保証されているのかをヒト細胞で解っていることを元に模式的に示したのが図2である。ライセンス化の制御は蛋白質(部品)を分解することにより保証されている事が判る。この分解に関わる因子には2種類あり、共にAPC/Cと呼ばれ、結合している因子の違いによって、APC/C^{Cdc20}(Cdc20)、とAPC/C^{Cdh1}(Cdh1)と区別される。両者ともジェミニンを分解し、Cdh1のみCdc6を分解する。真核細胞では、設計図を複製する時期(S期)と細胞の分裂時期(M期)は明確に区別され、それぞれの時期を開始するために必要なエンジンとなる蛋白質リン酸化酵素複合体(サイクリンと呼ばれる蛋白質を含む)がある。ここでは簡単のためS期の開始に必要な複合体をサイクリンA、M期の開始に必要な複合体をサイクリンB複合体としておく。サイクリンB複合体の活性が高いM期のある時期にCdc20が活性化され、サイクリンBが分解される事で細胞分裂の終了が誘導される。サイクリンBはCdc20の活性維持とCdh1の不活性化に必要である。従ってCdc20の活性化によってサイクリンBが分解されるとサイクリンB活性が低下してCdc20の活性も低下するが、その代わりにCdh1が活性化されることになる。これらAPC/Cの活性化によりサイクリンBとジェミニンが分解されるが、ライセンス化に働く因子のなかでCdc6以外は分解されない。Cdc6もCdh1が活性化すると分解されるので、M期の終わり

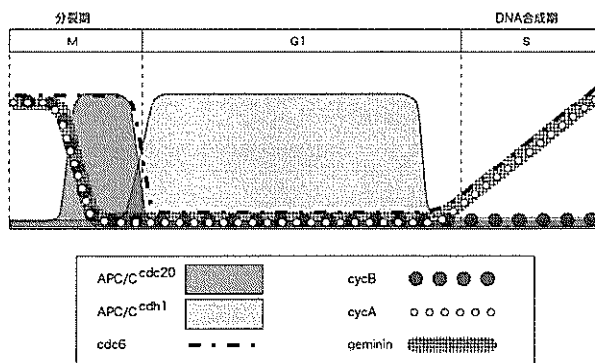


図2 ライセンス化を制御するタンパク質の分解制御

に一時期、ライセンス化に必要なすべての因子が存在し、ジェミニンが無い時期が出来る。このときに複製の許可が与えられるのである(図2参照)。またS期の前にCdh1は自動的に不活性化され、サイクリンA(サイクリンBの合成はM期の前に起こる)とジェミニンが蓄積する。このことで複製が開始すると同時に再複製も阻止される。またCdt1は複製が開始すると別な因子により分解が促進され、その結果、S期にはライセンス化が起こらないようになっている。

3. スイッチとして働くジェミニン

このように時系列でおこる過程を自動制御する機構は、工学分野でシーケンス制御と呼ばれているようだが、その中で最も重要な働きをするのがスイッチである。スイッチを必要なときに正確にon/offすることが製品の完成度を決定する。複製のライセンス化では、ジェミニンがライセンス化をoffにするスイッチとして働いていると考えられる。そこでジェミニンのスイッチとしての働きを調べるために、ジェミニンの分解が抑制された条件で発現量を変化させて、ライセンス化活性がどのように変化するかを調べてみた。図3に示しているように、ある濃度以上のジェミニンが存在するとライセンス化活性はoffになる。まさに回路のスイッチと同じ働きをしていることが判ってきた。ところでジェミニンはCdt1と結合する事で、ライセンス化を阻害すると考えられている。しかし、単なる1分子同士の結合により阻害が起こると考えると、複合体形成(阻害)のジェミニン濃度依存性は単純な飽和曲線を示すはずなので、ジェミニンの閾値を示す挙動を説明することは難しい。そ

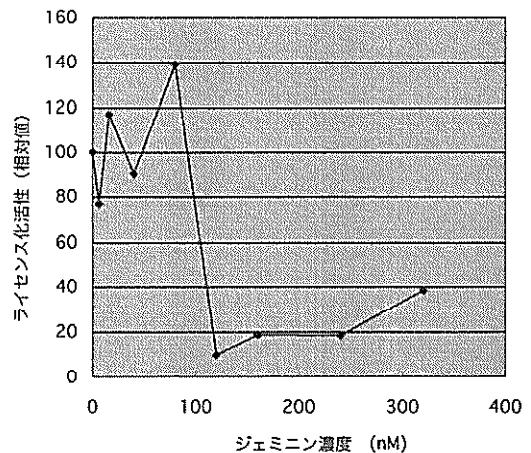


図3 ジェミニンによるライセンス化活性阻害

ここでジェミニン濃度の閾値がどのように生じているのかを明らかにするため、現在Cdt1とジェミニンの結合を試験管内で直接調べているが、解離速度が遅いため結合を正確に測定できず困っている。この問題を解決し、定量的な結合データに基づき試験管内でライセンス化を再構成して生体内で見られる厳密な制御の一端を解明することが出来れば、自己複製機械の謎に一步でも近づけるのではないかと考えている。

4. おわりに(ジェミニンとガン)

ところでジェミニンの働きは増殖しているどんな細胞でも保証されなければならない。ガン組織由来の培養細胞では、Cdt1を含めライセンス化に働く因子が高度に発現しているが、同時にジェミニンも高発現している。しかしガン細胞と正常な細胞ではジェミニンをさらに過剰に発現させた時の応答が異なることが報告された。ジェミニンの過剰な発現で正常な細胞は、ライセンス化が阻害されてG1期に停止したが、ガン細胞では停止することなくS期に進入して最終的に細胞死に至った。これらの研究結果は、1)ライセンス化に働く因子を検出することでガンの初期診断が出来る、2)ジェミニンと同じ働きをする薬物はガン細胞を特異的に標的とする抗ガン剤となる可能性があることを示している。すでに1)については臨床応用の段階に進んでおり、2)についてもジェミニンのような働きをする化合物のスクリーニングが進められている。私たちは最近ジェミニンの働きを制御する新たな機構として、染色体構造を作ってい

るヒストンをアセチル化する酵素の一つが関わっていることを示唆する結果を得た(参考文献3)。まだ仮説の段階であるが、ジェミニンのスイッチ的な働きもアセチル化と脱アセチル化で説明出来るのではないかと考えている。すなわち、アセチル化されているとジェミニンは不活性になり、脱アセチル化されているとジェミニンが活性化されるとすれば、ライセンス化阻害におけるジェミニン濃度の閾値が生じることが説明できる。そこで、このアセチル化酵素を特異的に阻害する化合物を見つけることが出来れば、この化合物はアセチル化を阻害することでジェミニンを活性化するので、ジェミニンを過剰に発現した時と同様にガン細胞を特異的に殺すことが出来るのではないだろうか。このような抗ガン剤への応用も考えながら、ライセンス化制御機構の研究を続けている。

最後に図1,2の作成を手伝っていただいた堀口祥子さんと、図3を作成した大出晃士君に感謝します。

参考文献

- 1) 細胞核のダイナミクス シュプリンガー・フェアラーク東京再構成核におけるDNA複製の解析 95-106頁(2004)
- 2) 細胞周期の最前線 実験医学DNA複製のライセンス化制御23巻9号 1340-1346(2005)
- 3) Iizuka, M., Matsui, T., Takisawa, H. and Smith M.M. Regulation of Replication Licensing by Acetyltransferase Hbo1. Mol. Cell. Biol. 26, 1098-1108(2006)

