

## 30-0403 W24-1

黄色ブドウ球菌の DNA 複製変異株の分離

○黒川 健児<sup>1</sup>, 松尾 美記<sup>1</sup>, 李 燕<sup>1</sup>, 村井 長元<sup>1</sup>, 村上 和久<sup>2</sup>, 関水 和久<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>東大院薬・発生,<sup>2</sup>塩野義製薬・創薬研)

【目的】DNA 複製の開始段階は厳密に制御されている。本研究ではこれまで研究を進めてきたグラム陰性の大腸菌とは DNA 複製の開始制御機構が異なると予想されるグラム陽性の黄色ブドウ球菌について、複製の変異株の分離を行った。

【方法】黄色ブドウ球菌 RN4220 株を変異剤処理し、高温感受性となった変異株を約 750 株得た。この中に複製開始に必要なと予想される *dnaA*、*dnaB*、*dnaD* あるいは *dnaI* 遺伝子を含むプラスミドによって温度感受性が相補される株を検索した。

【結果】*dnaA*、*dnaB*、*dnaD* あるいは *dnaI* 遺伝子を含むプラスミドによって温度感受性が相補される株をそれぞれ 1、5、2、あるいは 3 株得た。これらの変異株の当該遺伝子にはそれぞれ一残基のアミノ酸置換変異があった。ファージ 80alpha を用いた形質導入実験においては、各遺伝子の近傍に挿入した薬剤耐性遺伝子と温度感受性がある頻度で挙動を共にすることが見出され、各遺伝子変異が温度感受性の原因であることが示唆された。これらの株では標識されたチミンの取り込みが高温下で停止したこと、またフローサイトメーターを用いた解析では、高温かつ細胞分裂の阻害下で細胞内の DNA 量がゲノム量の 2 あるいは 4 倍に、一部の株では 3 倍量にも収束した。従って、これらの株では高温で DNA 複製の開始段階が不全となっていること、さらに複製開始の同時性、即ち細菌細胞内に複製開始点が複数ある場合にそれらから同時に複製が始まる事象が、*dnaA*、および幾つかの *dnaB*、*dnaI* 変異株では障害されていることが示唆された。

【考察】黄色ブドウ球菌の *dnaA*、*dnaB*、*dnaD*、及び *dnaI* 遺伝子が細胞の増殖に必須であること、またこれらが DNA 複製の開始に必要であり、*dnaA*、*dnaB*、及び *dnaI* 遺伝子については複製開始の同時性に必要であることが見出された。