

氏名	まつもと ゆきこ 松本由記子
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第2338号
学位授与の日付	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	DNAグリコシラーゼの基質特異性と突然変異抑制機能との相関

論文調査委員 (主査) 教授 山岸 哲 教授 米井 脩治 教授 佐藤 矩行

論文内容の要旨

7,8-ジヒドロ-8-オキソグアニン(8-oxoG)は、細胞内に生じる主要なDNAの酸化損傷であり、DNA複製の際にアデニンと対合することでG:C→T:Aトランスバージョンを引き起こす。また、グアニンとも対合することが明らかにされており、この場合ではG:C→C:Gトランスバージョンを引き起こす。生物には8-oxoGをDNAから除去する修復酵素が普遍的に存在することが知られている。大腸菌でこの酵素の活性を持つのはMutMタンパク質である。酵母やヒトでも、8-oxoGを認識しそれを除去するタンパク質Ogg1がそれぞれ同定されている。最近、酵母やヒトでOgg1以外に8-oxoGに対して活性を持つ別のタンパク質Ogg2が見つかった。酵母ではこれが大腸菌Nthホモログであることが報告されている。

本研究では、大腸菌のNthタンパク質が8-oxoGを除去する活性を持つかどうか、特に8-oxoG:Gミスペアに対する活性を明らかにすることを目的とした。大腸菌ではMutMタンパク質が8-oxoG:Gミスペアの8-oxoGを基質とすることが分かっている。8-oxoG:GミスペアがDNA中で修復されないままならG:C→C:Gトランスバージョンが起きると考えられる。Miller博士らが分離した大腸菌CC103の*mutM nth nei*三重突然変異株の自然突然変異頻度を検出したところ時間依存的にG:C→C:Gトランスバージョンの頻度が上昇した。この3つの遺伝子がすべて欠損しないと自然突然変異頻度は上昇しなかった。また、NaBH₄存在下で、8-oxoGを含む二本鎖オリゴヌクレオチドと大腸菌の抽出液とを反応させると、8-oxoGに対してグリコシラーゼ/APリナーゼ活性を持つタンパク質がトラップされてくる。8-oxoG:Cに対しては、大腸菌MutMタンパク質がトラップされてくるが、8-oxoG:Gに対してはMutMに加えてNthおよびNeiタンパク質がトラップされてきた。精製Nthタンパク質には実際に8-oxoG DNA切断活性が存在した。NthはNeiタンパク質とともに8-oxoG:Gの修復において、MutMタンパク質のバックアップ酵素として作用していることが考えられる。大腸菌のNth、出芽酵母のNthホモログともに8-oxoGに対する活性が見られたことから、さらにヒトのNthホモログhNth1タンパク質についても詳細な検討を行ったところ、ヒトhNth1にも8-oxoG:Gの8-oxoGに対する切断活性があることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

突然変異は、DNA複製のエラーによって生じる塩基ミスマッチ及び自然にあるいは放射線などによって生成する活性酸素によって生じる。細胞には突然変異を抑制するために、このようなDNA損傷を修復する様々な経路や防御機構が存在する。8-オキソグアニンは突然変異性を示す代表的な塩基損傷である。細胞には、この8-オキソグアニンをDNAから除去する修復系が備わっており、大腸菌ではMutMタンパク質が最初に同定された。しかしながら、MutMタンパク質を欠失した変異株でも、G:C→C:Gトランスバージョンの頻度は野生株に比べてそれほど増大しない。申請者は、この理由を、MutMの他に未同定の8-オキソグアニン修復酵素があるからだと考えた。申請者の研究は、この8-オキソグアニンを修復

し、G:C→C:G トランスバージョンを抑制する未知の修復経路を解明しようとしたものである。

申請者は、まず、NaBH₄によるトラッピング法を用いて、8-オキソグアニンを含むオリゴヌクレオチドに強く結合する3種類の異なるタンパク質の同定に成功した。一つは、MutMであったが、あとの二つのタンパク質はエンドヌクレアーゼⅧ（Neiタンパク質）とエンドヌクレアーゼⅢ（Nthタンパク質）であることが分かった。Nthタンパク質は *in vitro* でチミングリコールなど幅広いピリミジン損傷を認識してDNAから除去するDNAグリコシラーゼの活性を持つ。申請者は、このタンパク質がプリン塩基の酸化体である8-オキソグアニンを認識できるという新しい活性を持つことを発見した。さらに、これら3つの酵素の活性を失った変異細胞では、G:C→C:G トランスバージョンの頻度が著しく増大することを見つけた。さらに、ヒトのhNth1タンパク質にも同様の活性があることを発見している。この研究は、修復酵素の基質認識の解明に新しい分子機構を提供するものであるという高い評価を得た。

申請者の研究は、DNA修復機構の研究に大きな貢献をするものである。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。平成13年1月19日、本論文及び参考論文に報告されている研究業績を中心として、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。