

氏 名	おぎ とも お
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2355 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	マウス及びヒトの DNA ポリメラーゼ $\kappa$ をコードする遺伝子の同定と発現制御機構の解析
論文調査委員	(主 査) 教授 上 村 匡 教授 岡 穆 宏 教授 井 口 八 郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

本研究では、大腸菌の突然変異誘発因子 DinB とアミノ酸配列相同性の高い蛋白質をコードする遺伝子をマウスとヒトからクローニングし、これらを *Dinb1* 及び *DINB1* と命名した。マウスの *Dinb1* cDNA を培養細胞中で一過的に発現させると、*Hprt* 遺伝子座への突然変異頻度が約10倍上昇することが確認され、大腸菌の *dinB* 同様の突然変異誘発活性があることを示した。

ヒト *DINB1* 蛋白質には DNA ポリメラーゼ活性が確認され DNA ポリメラーゼ  $\kappa$  (*Polk*) と認定されたことから、マウス及びヒトの遺伝子はそれぞれ *Polk* 及び *POLK* と改称された。*Polk* は複製忠実度が低い DNA ポリメラーゼで、各種 DNA 損傷のバイパス合成活性を持ち、特にベンゾ [a] ピレン誘導体の付加したグアニン塩基を効率的かつ複製エラーを伴わずにバイパス合成可能であることが明らかにされた。

ベンゾ [a] ピレンなどの環境中の発癌性多環性芳香族炭化水素はレセプター型転写因子である arylhydrocarbon receptor (*AhR*) と結合して *AhR/Arnt* (*AhR nuclear translocator*) 複合体を形成し核内に移行すると、Xenobiotic responsible element (*XRE*) 配列をプロモーター領域に持つ一群の薬剤代謝酵素の発現を誘導する。これらの酵素の作用によって *pre-mutagen* は活性化され、その一部は DNA に結合し付加型の損傷を形成する。マウス *Polk* 及びヒト *POLK* の遺伝子構造を解析したところ、そのどちらのプロモーター領域にも *XRE* 配列と相同性の高い配列が見つかった。マウスの *Polk* の *XRE* 配列には *AhR/Arnt* 複合体が配列特異的に結合することを確認した。さらに *AhR* を介して *Cyp1a1* 等の遺伝子の転写誘導活性を持つメチルコラントレン (3MC) をマウスに投与することで、精巣や肝臓あるいは肺で *POLK* 蛋白質の発現が上昇することを示した。このことから、薬剤代謝による変異原性物質の活性化経路と、これによる変異誘発を回避する DNA 修復経路が同一の転写因子 *AhR* の支配下にあることを証明した。

また *POLK* 蛋白質の発現は精巣で高く、免疫染色によって精母細胞から後期精子細胞までの異なる細胞種で発現が確認され、減数分裂期の DNA 合成や精子の形態形成など DNA 修復以外の機能への関与も示唆された。生殖細胞での DNA 合成に複製忠実度の低い *Polk* が関与し、さらにその発現量は環境中の化学物質によって変化することから、生育環境の変化に応じた適応性獲得のための突然変異誘発機構が高等生物にも保存されていることが示唆される。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

突然変異は、遺伝情報を安定に維持するという観点からは有害であり、このため生物は突然変異の発生を避けるような防御機構を有している。しかし、大腸菌などでは環境ストレスによって突然変異の発生頻度が上昇する現象や、高等生物においても免疫細胞における体細胞超変異など、突然変異によって多様性を獲得する機構が存在することが知られている。大腸菌の突然変異誘発は、DNA 損傷によってその発現が誘導される SOS 蛋白質 *UmuD'2C* 及び *DinB* によって引き起こされるが、このうち *DinB* 蛋白質の関与する変異誘発は必ずしも DNA 損傷には依存せず、このため適応性獲得のための突然変

異の誘発に寄与しているとも考えられている。

申請者は、マウスとヒトの *DinB* ホモログ cDNA を単離した。後にこれらは複製忠実度の低い DNA ポリメラーゼをコードすることが明らかになり、それぞれの遺伝子は *Polk* 及び *POLK* と呼ばれる。マウスの *Polk* DNA を培養細胞中で一過的に発現した場合には、*Hprt* 遺伝子座での突然変異頻度が10倍程度上昇することを示した。このことからマウスの *Polk* は突然変異誘発活性を持ち、哺乳類においても大腸菌同様の変異誘発機構が保存されていることを明らかにした。

また、マウス *Polk* 及びヒト *POLK* 遺伝子の構造解析をおこない、転写制御機構を解析した。両遺伝子のプロモーター領域には、多環性芳香族化合物などの環境変異原によって活性化され、これらの化合物の代謝分解に関与する遺伝子群の発現を誘導するアрил hidrocarbon レセプター (AhR) の結合配列 (XRE 配列) と相同性が高い配列が存在することを見出した。実際、AhR 蛋白質複合体がマウス *Polk* のプロモーター領域に見つかった二個の XRE 相同配列に結合することを示した。さらに、マウスの *Polk* は誘導物質によって発現量が増大し、AhR を介して転写制御を受けていることを明らかにした。*Polk* には、DNA 鋳型鎖上のベンゾ [a] ピレン (BaP) の付加した塩基をバイパス合成する活性が確認され、これらのことから生体内代謝による変異原性物質の活性化経路と、これによる変異誘発を回避する DNA 修復経路が同一の転写因子 AhR の支配下にあることを証明した。

これらの研究成果は、BaP など生体内で活性化されて DNA に損傷を生じるような化合物による変異誘発の抑制に *Polk* が関与していることを示唆しているが、また環境変異原による発癌機構を解明する足がかりとなる重要かつ興味深い成果である。

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られる。なお、平成13年2月3日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。