

氏 名	よし むら みち お 吉 村 通 央
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3032 号
学位授与の日付	平 成 19 年 1 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	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Vertebrate POLQ and POL β cooperate in Base Excision Repair of Oxidative DNA Damage. (動物細胞の polymerase Q と polymerase β は、DNA 酸化損傷の塩基除去修復に共同して作用する。)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 松 賢 志 教 授 丹 羽 太 貫 教 授 藤 堂 剛

論 文 内 容 の 要 旨

塩基除去修復 (BER) は、酸化的損傷や環境因子などによって引き起こされる DNA の塩基損傷から細胞を守る重要な機構である。今回、DNA ポリメラーゼ POLQ がその塩基除去修復機構に関わる、と考えられる実験結果が得られたので、ここに報告する。DNA 架橋剤に高感受性を呈するショウジョウバエから、*MUS308* という遺伝子が同定された。*MUS308* は、遺伝子産物の N 末端にヘリカーゼ配列、C 末端にポリメラーゼ配列を持つという特異な遺伝子であった。その後、*MUS308* 遺伝子の相同遺伝子 *POLQ* が、ヒト、マウスなどで同定された。また、POLQ のヘリカーゼ配列、ポリメラーゼ配列とそれぞれ相同な *HEL308*, *POLN* という遺伝子も発見された。POLQ は、これまでの生化学の実験から損傷乗り越え修復 (TLS) に関わる DNA ポリメラーゼと推察されてきたが、今回、動物細胞における POLQ の機能を明らかにするために、ニワトリ DT40 細胞にて、POLQ のノックアウト細胞 (*polq* とする) を作製した。*polq* 細胞は、細胞の増殖が遅く、死細胞の比率、染色体断裂の比率が高く、姉妹染色分体交換 (SCE) 値も上昇していたため、POLQ は DNA の安定維持に寄与しているということが推察された。また、*polq* 細胞は、紫外線や DNA 架橋剤には高感受性を示さなかったが、 H_2O_2 による酸化的損傷には高感受性を示した。さらに、*HEL308*, *POLN* の各ノックアウト細胞、POLQ と *HEL308*, POLQ と *POLN* の二重ノックアウト細胞 (それぞれ、*hel308*, *poln*, *polq/hel308*, *polq/poln* とする) を作製し、機能を調べたが、*hel308*, *poln*, *polq/hel308*, *polq/poln* 細胞は、DNA 損傷を誘導する薬剤に対して、*polq* と比して特に強い感受性を示さなかった。そこで、POLQ と BER に関与する代表的なポリメラーゼである POL β の二重欠損細胞 (*polq/pol\beta* とする) を作製し、その機能を調べた。驚くべき事に、*polq/pol\beta* 細胞の酸化的 DNA 損傷に対する感受性は、*polq*, *POL\beta*^{-/-} (*pol\beta* とする) 細胞と比して、強くなった。さらに、生化学の実験により、BER 機能が *polq* 細胞では低下し、*polq/pol\beta* 細胞ではさらに低下することが証明された。また、塩基損傷を与えた後に細胞内で修復されずに残る 1 本鎖切鎖の量を測定したところ、*polq/pol\beta* 細胞において *pol\beta* 細胞よりも 1 本鎖切鎖の量が多いことが分かった。さらに、POLQ は HeLa 細胞内で POL β と同様に塩基損傷部位に速やかに集積することも確認された。これらの結果から、動物細胞において、POLQ は、酸化的塩基損傷の修復において POL β と共同で作用し、今まで推察されてきた TLS という機能だけではなく、BER という新しい役割を持つことが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

塩基除去修復 (BER) は、環境因子などによって引き起こされる DNA の塩基損傷から細胞を守る重要な機構である。本研究は、これまで生化学実験により損傷乗り越え修復 (TLS) に関わるポリメラーゼと推察されてきた DNA ポリメラーゼ POLQ が塩基除去修復機構に関わることを示したものである。

動物細胞における POLQ の機能を明らかにするために、ニワトリ DT40細胞にて *POLQ* のノックアウト細胞 (*polq*) を作製した。*polq* 細胞は DNA 架橋剤に感受性を示さなかったが、 H_2O_2 による酸化的損傷には高感受性を示したため、

POLQ の BER への関与を考え、*POLQ* と BER 関連ポリメラーゼ遺伝子 *POLβ* の二重欠損細胞 (*polq/polβ*) を作製した。*polq/polβ* 細胞の酸化的 DNA 損傷に対する感受性は、*polq*, *POLβ*^{-/-} (*polβ*) 細胞と比して強くなった。また、生化学実験により、BER 機能が、*polq* 細胞では低下、*polq/polβ* 細胞ではさらに低下することが証明された。

これらの結果から、動物細胞において、POLQ は、酸化的塩基損傷の修復において *POLβ* と共同で作用し、TLS だけではなく、BER という新しい役割を持つことが示唆された。

以上の研究は DNA 修復機構の解明に貢献し、今後この分野に関連する医学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年12月6日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。