

氏 名	みや べ いずみ 宮 部 泉
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2340 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 中に生じた 5-フォルミルウラシルによる突然変異の誘発とその抑制機構の研究
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

電離放射線や活性酸素は DNA に多種多様の塩基損傷を生じさせる。それらの塩基損傷の生物作用と修復機構を解明することは、突然変異や発がんの機構を知るうえで重要である。5-フォルミルウラシルは電離放射線や活性酸素によって DNA 中のチミンから生成する。放射線照射では、5-フォルミルウラシルの生成量はチミングリコールのそれとほとんど同程度であることから、5-フォルミルウラシルはチミンの主な酸化的損傷の一つであるといえる。しかし、5-フォルミルウラシルの生物作用はチミングリコールやグアニンの主要な塩基損傷である 8-オキシグアニンと比べてほとんど明らかにされていない。

申請者は、この 5-フォルミルウラシルの生物作用を検討するために、5-フォルミルウラシルを部位特異的に含むオリゴヌクレオチドの化学合成を行った。このようなオリゴヌクレオチドの利用は、個々の塩基損傷の生物作用を調べるのに非常に有用な方法であるが、5-フォルミルウラシルがオリゴヌクレオチド合成の過程で不安定であるために、これまでこの損傷塩基をオリゴヌクレオチド中に挿入することができなかった。そこで本研究では、まず安定な 5-フォルミルウラシルの前駆体を挿入したオリゴヌクレオチドを合成し、これに温和な酸化反応を行って前駆体を 5-フォルミルウラシルに変換させた。

本研究ではこのオリゴヌクレオチドを用いて *in vitro* DNA 合成の際に 5-フォルミルウラシルが鋳型に存在すると、DNA ポリメラーゼによってその向かい側にアデニン以外にシトシンが挿入されることをまず示した。次に、DNA 中の 5-フォルミルウラシルが実際に大腸菌において突然変異を誘発することを明らかにした。さらに、DNA 中に生じた 5-フォルミルウラシルが大腸菌 Nth, Nei, MutM の 3 種類の DNA グリコシラーゼ/AP リアーゼによって DNA 中から取り除かれることと、ヒト細胞においては少なくとも hNTH1 タンパク質 (Nth ホモログ) によって修復されることを明らかにした。

以上の結果から、5-フォルミルウラシルは細胞において突然変異の原因となりうることで、細胞はそれを修復することによって突然変異の誘発を抑制していることが示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒドロキシルラジカルが細胞内の DNA を酸化すると、多くの種類の塩基酸化体を生じる。チミンのメチル基がヒドロキシルラジカルによる攻撃を受けると 5-ヒドロペルオキシメチルウラシルが生じ、これが自然に分解して 5-フォルミルウラシルと 5-ヒドロキシメチルウラシルが生じる。5-フォルミルウラシルは放射線照射などによってチミンの主要な酸化体であるチミングリコールやグアニン由来の 8-オキシグアニンと同程度の量で DNA 中に生じる。これらの報告は 5-フォルミルウラシルがチミンの主要な酸化的塩基損傷の一つであることを示している。

5-フォルミルウラシルに突然変異性があることはすでに示唆されているが、その研究はチミングリコールや 8-オキシグアニンのそれと比べて非常に遅れている。その原因の一つとしてこの損傷塩基の化学的特性があげられる。DNA 損傷の研

究には個々の損傷を部位特異的に挿入したオリゴヌクレオチドが有用であり、特に近年よく用いられてる。本研究ではこのようなオリゴヌクレオチドをつくるためにまず安定な前駆体を挿入し、それをオリゴヌクレオチド中で5-フォルミルウラシルに変換する方法をとった。ジオール型の前駆体を部位特異的に含んだオリゴヌクレオチドをホスホルアミダイト法によって合成し、これを穏やかに酸化することによって5-フォルミルウラシルに変換した。

本研究ではこのオリゴヌクレオチドを用いて以下のことを明らかにした。(1)5-フォルミルウラシルが *in vitro* DNA 合成の鋳型に存在すると DNA ポリメラーゼによってその向かい側にアデニン以外にシトシンが挿入されること、(2)DNA 中の5-フォルミルウラシルは大腸菌において突然変異を誘発すること、(3)5-フォルミルウラシルは大腸菌 Nth, Nei, MutM の三つの DNA グリコシラーゼによって DNA 中から取り除かれること、(4)ヒトにおいては少なくとも hNTH1 (Nth ホモログ) によって修復されること。以上の結果から DNA 中の5-フォルミルウラシル残基は細胞において突然変異の原因となり、原核細胞、真核細胞に関わらず細胞はそれを効率的に修復することによって突然変異の誘発を抑制していることが証明された。

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。