

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-オキシグアニン (8-oxoG) は、細胞内に生じる主要な DNA の酸化的損傷であり、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 リア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-オキシ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-オキシグアニンを 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-オキシ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-オキシグアニンを修復

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-オキシ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Ⅶ（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-オキシ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。