

(論文内容の要旨)

生物の細胞内の DNA は、脱アミノ化や脱プリン化、酸化など、自然に起こる様々な化学反応によって常に損傷を受ける。これらの塩基の変化や脱塩基が修復されずに残ると突然変異生成の原因となる。生物は、個体の生存および種の存続のためにそれらの塩基損傷を修復し、ゲノムの安定性を維持するしくみとして塩基除去修復を進化させてきた。この機構は、バクテリアからヒトに至るまでほとんどの生物において共通して存在することから、遺伝情報の維持に重要な役割を果たしていると考えられている。塩基除去修復で働く酵素のなかで鍵となる DNA グリコシラーゼは微生物からヒトに至るまでよく保存されている。大腸菌や出芽酵母などの単細胞生物において、DNA グリコシラーゼに変異をもつ株が、野生株に比べて自然突然変異を高い頻度で起こすことが知られている。一方、DNA グリコシラーゼ遺伝子の変異がもたらす高等真核生物特有の影響はあまりよく知られていない。これは発生や老化の研究のモデル生物として広く用いられている線虫 *C. elegans* においても同様であった。申請者はウラシル DNA グリコシラーゼの線虫におけるホモログ Ung-1 が、二本鎖および一本鎖 DNA 中のウラシルを除去する活性を持っており、さらに突然変異の原因となる、グアニンと対合したウラシルに対し特に強い活性を示すことを明らかにした。線虫 *ung-1* 欠損株は通常の飼育環境下では野生株と変わらず正常に発育し、生殖にも影響がみられなかったが、胚発生時において、脱アミノ化剤 NaHSO_3 に対する感受性を調べたところ、*ung* 欠損株が高感受性となる出芽酵母の場合と異なり、線虫 *ung-1* 欠損株は野生株よりも低い感受性を示すことが明らかになった。申請者はまた、エンドヌクレアーゼ III の線虫におけるホモログ Nth-1 が致死的酸化塩基損傷であるチミングリコールを除去する活性を持ち、さらにその N 末端のアミノ酸配列が酵素活性に必須であることを見いだした。

(論文審査の結果の要旨)

DNA の塩基は、自然に起こるいくつかの化学反応—脱アミノ化反応、加水分解や酸化—によって常に損傷を受けている。それらの塩基の変化や脱塩基は突然変異生成などの原因となっている。生物は、それらの塩基損傷を修復し、ゲノムの安定性を維持するしくみとして塩基除去修復を備えている。塩基除去修復で働く酵素のなかで鍵となる DNA グリコシラーゼは微生物からヒトに至るまでよく保存されている。本研究で、申請者は、線虫 (*C. elegans*) を用いて、自然に起こるシトシンの脱アミノ化によって生じるウラシルや活性酸素によって生成する塩基酸化体の DNA 中での蓄積が個体の老化とどう関わっているのかを明らかにするために、まず、*C. elegans* でそれまで未同定であった DNA グリコシラーゼのクローニングと精製タンパク質の解析を行った。その結果、DNA 中のウラシルを認識し、N-グリコシド結合を切断することで DNA からウラシルを除去する酵素—ウラシル-DNA グリコシラーゼおよびピリミジン塩基の酸化体に作用する DNA グリコシラーゼであるエンドヌクレアーゼ III の同定に初めて成功した。申請者は、さらに、ウラシル-DNA グリコシラーゼ、エンドヌクレアーゼ III それぞれの欠損変異株の寿命を解析し、それらの遺伝子の欠損によって *C. elegans* の寿命は変化しないことを観察した。ほ乳類では SMUG1 というウラシル除去活性を持つ酵素が存在し、ウラシル-DNA グリコシラーゼのバックアップとして働いているとされているが、申請者の解析では *C. elegans* ではこの酵素は存在しない。エンドヌクレアーゼ III の欠損でも同じ結果を得ている。これらの結果は、*C. elegans* では、ウラシルやピリミジン酸化体を DNA から除去するバックアップ酵素が存在することを示唆しており、その同定は申請者のこれからの重要な研究課題である。さらに、申請者は、ウラシル-DNA グリコシラーゼ遺伝子の欠損変異株が、DNA のシトシンの脱アミノ化を起こす NaHSO_3 に対して、野生株に比べて、より抵抗性になることを見いだした。申請者は、ウラシル-DNA グリコシラーゼの作用で生じる脱塩基部位 (AP サイト) が原因となってアポトーシスを起こすという考察をしているが、この考察は DNA 修復の生物学的意義に新しい知見を与える可能性があり、きわめて興味深い。

申請者の研究は DNA 修復の研究、とくに DNA 損傷、その修復と老化との関連の解明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 21 年 1 月 23 日、本論文およ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。