

氏名	若 林 肇
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第1529号
学位授与の日付	平成8年3月31日
学位授与の要件	医学研究科病理系病態分子生物学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Purification and Characterization of a 39 KDa AP endonuclease from mouse ascites sarcoma cells (マウス腹水肉腫細胞の39KDa APエンドヌクレアーゼの 精製と性状解析)
論文審査委員	教授 難波 正義 教授 清水 憲二 教授 二宮 善文

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

細胞の遺伝物質で情報源でもあるDNAは、たえず損傷をうけている。なかでも多いのが塩基の欠落で、一日1細胞DNAあたり一万塩基以上欠落している。本研究では、この塩基欠落部位 (APサイト) の修復開始に関与すると推定される酵素、APエンドヌクレアーゼの一種をマウス腹水肉腫細胞から精製し、その性状を検討した。精製は、低張処理で可溶性画分を除いた透過性細胞から酵素を塩抽出し、カラムクロマトグラフィーとラウリル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)法で行った。精製酵素は、SDS-PAGE法により測定した分子量約39,000で、APサイトをもつDNA 特異的にnicking activity を示し、APサイトをもつDNAおよびプレオマイシン誘導一本鎖切断DNA (3' ブロック末端をもつDNA) をDNAポリメラーゼのtemplate-primerに転換する活性 (priming activity) を示した。これらの結果は、本酵素がDNA3' 修復ジエステラーゼ活性を持つクラスII APエンドヌクレアーゼであることを示している。APエンドヌクレアーゼ活性は、至適pH8.0で、 Mg^{2+} や Co^{2+} の様な2価陽イオンを要求した。本精製酵素標品はN末がブロックされていたので、V8プロテアーゼで部分消化し、SDS-PAGEで展開して、4つの主要なペプチド断片を得て部分アミノ酸配列を決めた。得られた部分アミノ酸配列は、SWISS-PROT, NBRF等のデータベースに登録されている配列に高い相同性を示さなかった。この結果と酵素学的性状から、本酵素は新しいAPエンドヌクレアーゼと推定された。なお、本論文は共著論文であり、共著者の協力を得て完成したものである。

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

本研究はマウス腹水肉腫細胞より新しい39kDa APエンドヌクレアーゼを精製し、その性状を解析したものである。本酵素は、APエンドヌクレアーゼ活性のほかにDNA3' 修復ジエステラーゼ活性を有しており、活性発現に Mg^{2+} および Co^{2+} などの2価イオンを必要とするV8プロテアーゼ部分消化で得られた本酵素の4つのペプチド断片のアミノ酸配列の分析と酵素学的解析から、本酵素は新しいAPエンドヌクレアーゼと推定され、重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。