

氏名	小 野 哲 義		
授与した学位	博	士	
専攻分野の名称	薬	学	
学位授与番号	博	甲	第 1370 号
学位授与の日付	平成 7 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生体調節科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文題目	メナジオンによって誘発される突然変異の解析		
論文審査委員	教授 早津 彦哉,	教授 土屋 友房,	教授 関 周司
	教授 山田 哲治,	教授 香川 弘昭	

学位論文内容の要旨

「目的」細胞内で生成されたスーパーオキシドは、突然変異を起こす原因であるとされている。大腸菌菌体内でスーパーオキシドを増産をすることが知られているメナジオンが、どのようなタイプの突然変異を誘発するかは興味ある問題である。そこで、大腸菌の野生株および *mutM* 変異株 (DNA 上の 8-OH グアニンを除去できない) をメナジオンで処理したときの *lacI* 遺伝子の突然変異誘発率を調べた。次に、*lacI* 遺伝子上でどのようなタイプの塩基変化が生じたかを調べた。

「方法」大腸菌をメナジオンで処理し、変異体の選択を、*lac*⁺ → *lacI*⁻ および *lacO*^c によって行なった。突然変異スペクトラムの解析は、*lacI* 遺伝子を nested PCR によって増幅し、direct sequencing した。

「結果」大腸菌野生株および *mutM* 変異株 をメナジオンで処理したときの *lacI* 遺伝子の突然変異誘発率は、濃度依存性を示し増加した。塩基対置換の各種タイプについて、野生株では、どのタイプも同程度起こっていたが、*mutM* 変異株では、GC から CG への塩基対変化が (CT/GC)GGC 配列の G で高頻度で起こった。以上のことから、メナジオンは、大腸菌に GC から CG への塩基対変化を引き起こす DNA 損傷を生じさせることができ、その損傷は、MutM タンパクによって除去されることが示唆された。

論文審査結果の要旨

細胞内で生成されたスーパーオキシドは、突然変異を起こす原因であるとされている。大腸菌菌体内でスーパーオキシドを増産をすることが知られているメナジオンが、どのようなタイプの突然変異を誘発するかは興味ある問題である。そこで、大腸菌の野生株および *mutM* 変異株 (DNA 上の 8-OHグアニンを除去できない) をメナジオンで処理したときの *lacI* 遺伝子の突然変異誘発率を調べた。次に、*lacI* 遺伝子上でどのようなタイプの塩基変化が生じたかを調べた。

大腸菌をメナジオンで処理し、変異体の選択を、 $lac^+ \rightarrow lacI$ および $lacO^o$ によって行なった。突然変異スペクトラムの解析は、*lacI* 遺伝子を nested PCR によって増幅し、direct sequencing した。

大腸菌野生株および *mutM* 変異株 をメナジオンで処理したときの *lacI* 遺伝子の突然変異誘発率は、濃度依存性を示し増加した。塩基対置換の各種タイプについて、野生株では、どのタイプも同程度起こっていたが、*mutM* 変異株では、GC から CG への塩基対変化が (CT/GC)GGC 配列の G で高頻度で起こった。以上のことから、メナジオンは、大腸菌に GC から CG への塩基対変化を引き起こす DNA 損傷を生じさせることができ、その損傷は、MutM タンパクによって除去されることが示唆された。

以上の研究は、学位を授与するのに十分な内容を持つと判定した。