氏　名	鈴　木　利　典（すずき　としのり）
学位(専攻分野)	博　士　（学　術）
学位記番号	博　乙　第　45　号
学位授与の日付	平成 8 年 7 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	グアニン特異的 DNA 損傷の分子論的解明
審査委員	（主査）教授 牧野圭祐
	教授 木村良晴　教授 村上　章　助教授 山岡亮平

論文内容の要旨

高度に発達した産業によって排出される化合物が引き起こす DNA 損傷と発ガンの関係を明らかにすることは科学の大きなテーマであるが、一般的生活条件においても DNA 損傷は頻繁に生じており、このような内因性発ガン因子についての研究もこれに劣らない重要な研究課題である。申請者は、DNA 損傷の中でも、特に DNA 中のグアニン残基に対して自発的にあるいは内因性化合物である亜硝酸（一酸化窒素）によって引き起こされる DNA 損傷に関して詳細な検討を行い、種々の反応ならびに生成物を明らかにし、その結果を学位申請論文としてまとめている。以下、論文内容を章別に概説する。

第 1 章では、本研究を理解するために必要な背景を総括して述べている。

第 2 章には、自発的デプリネーションに関する研究結果がまとめられている。ここでは、高速液体クロマトグラフィーを用いて、一本鎖オリゴデオキシヌクレオチド中のデプリネーション速度とその結果生じるアベーシック（AP）サイトの分解速度がグアニン残基の位置とどのように関係しているかについて詳細に議論している。この目的のために、種々の位置にグアニン残基を有したオリゴデオキシヌクレオチド 4 量体を合成し、これらを 90℃で温置したのち、生じたフラグメント（反応生成物）を高速液体クロマトグラフィーによって分離し、$NaBH_4$ 還元、*n*-ブチルアミン処理、アルカリ性ホスファターゼ処理を組み合わせた分析法によって同定・定量した。この結果、デプリネーションに引き続き AP サイトの分解が起きることを明らかにし、また速度論的解析によって、オリゴヌクレオチドの 3′ ならびに 5′ 両末端に位置するグアニン残基のデプリネーション速度が内部に存在する残基よりも数倍速いことを明らかにし、さらに AP サイトの分解に関しては、内部に生じたサイトの分解が 5′ 末端に生じたサイトの数倍速いことを明らかにした。またデプリネーションの活性化エネルギーについても評価を加え、これがグアニン残基の位置には無関係に一定であることも見出した。

第 3 章では、塩基に対する代表的脱アミノ化剤である亜硝酸ならびに一酸化窒素がデオキシグアノシン（dGuo）に与える損傷について検討を行った。この研究では、既に主生成物として報告されているデオキシキサントシン（dXao）及びそのデプリネーションで生じるキサンチン（Xan）以外にもう一つの化合物が生成することを見出し、質量分析法、元素分析、核磁気共鳴法（NMR）を駆使してこの化合物の同定を行った。これらの分析結果より、この化合物を 5-amino-3-β-D-2′-deoxyribofuranosyl-3H-imidazo [4, 5-d] [1, 3] oxazin-7-one（2′-deoxyoxanosine）と決定した。またこの化合物に対する ^{1}H ^{15}N HMQC-NMR 測定を行い、2′-deoxyoxanosine のアミノ基は dGuo のアミノ基ではなくイミノ基から生じることも明らかにした。また 2′-deoxyoxanosine が一酸化窒素によっても生じることを明らかにし、さらにはこの化合物の自発的分解反応についても詳細に研究している。

第 4 章では、DNA 鎖中でも 2′-deoxyoxanosine が生成することを証明するために、グアニン残基を含

む一本鎖オリゴデオキシヌクレオチドならびにCalf Thymus DNAを試料として用い、これを亜硝酸処理して生成物を解析した。この結果、2′-deoxyoxanosineが2つの試料中でdGuoの場合と同程度生成することを明らかにし、生体内DNAにおいても亜硝酸あるいは一酸化窒素によってグアニン残基が2′-deoxyoxanosineに変換されうることを明らかにした。上記の結果は、内因性化合物である亜硝酸あるいは一酸化窒素によってDNA中に2′-deoxyoxanosine残基が生成する可能性を初めて示したものである。また2′-deoxyoxanosineのデプリネーション速度が遅いことも明らかにしており、もし生体内でこの化合物の修復酵素が存在しなければ、変異原となりうる可能性を示すものである。またその一方で、2′-deoxyoxanosineは抗ガン作用を持つことも知られており、生体内で生理活性を持つことも考えられる点、興味深い結果である。

第5章は、結語であり、本論文の総括である。

論文審査の結果の要旨

申請者鈴木利典氏は、平成3年4月1日より平成8年3月31日まで本学大学院工芸科学研究科機能科学専攻博士後期課程に所属し、退学後も引き続き本研究科の研究生として在籍し、研究に従事してきた。専門は核酸化学である。今般、これまでの研究結果を総合し、「グアニン特異的DNA損傷の分子論的解明」という課題で学位申請論文を提出しているが、この論文は下に示したレフリー付きの国際的に評価の高い欧文学術雑誌に報告された2編の論文の内容をまとめたものである。この2編とも申請者が筆頭著者であり、本学の学位規定による資格を満足している。また学位申請論文に記載された研究内容は、上記要旨にまとめたように、内因性因子によって遺伝子中のグアニン残基に対して特異的に生じる損傷に関する新規で重要な知見を多く含むものである。よって本審査委員会は、鈴木利典氏の提出された学位申請論文を高く評価し、本学の博士号（学術）を授与するのに十分値するものと結論する。

1. Mechanistic studies on depurination and apurinic site chain breakage in oligodeoxynucleotides. Toshinori Suzuki, Shinzo Ohsumi, and Keisuke Makino, *Nucleic Acids Res.*, 22, 4997-5005 (1994).
2. Isolation and characterization of novel product, 2′-deoxyoxanosine, from 2′-deoxyguanosine, oligodeoxynucleotide, and calf thymus DNA treated by nitrous acid and nitric oxide. Toshinori Suzuki, Ryohei Yamaoka, Masatoshi Nishi, Hiroshi Ide, and Keisuke Makino, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 2515-2516 (1996).