

ヒト DNA ポリメラーゼ による酸化損傷 dNTP 取り込みで 生じる突然変異に関する研究

日高 勝彦

キーワード： ヒト DNA ポリメラーゼ ，酸化損傷，突然変異

1. 背景

20 世紀初頭からの化学工業の発展により，我々を取り巻く環境には多種多様の化学物質が存在するようになった．これらの中には発がん物質や変異原物質も存在しており，我々は化学物質による健康リスクに日々曝されている．今日までの研究により，多くの発がん・変異原物質は生体内で活性酸素種を誘起することで，DNA に酸化的な損傷を与え，突然変異を誘発することが明らかになった．活性酸素種は，DNA そのものだけでなく，DNA の前駆体である dNTP も酸化し，酸化された dNTP が DNA に取り込まれることによって突然変異を誘発すると考えられている．この酸化 dNTP の DNA への取り込みに大きく寄与している可能性のある DNA ポリメラーゼとして， γ ファミリーポリメラーゼが挙げられる． γ ファミリーポリメラーゼは，DNA 合成の際に他の DNA ポリメラーゼよりも誤った塩基対を作りやすいという特徴を持つことが知られている．

2. 目的・手法

本研究では，ヒト γ ファミリーポリメラーゼの一つである DNA ポリメラーゼ ($\text{pol } \gamma$) に着目し，これが主要な酸化損傷 dNTP である 2-OH-dATP，8-OH-dGTP を DNA に取り込むことで誘発される突然変異の特徴について，*in vitro* gap-filling assay を用いて検討した．

3. 結果・考察

ヒト DNA ポリメラーゼ による *in vitro* DNA 合成の際に，正常 dNTPs (200 μM) と等量の 2-OH-dATP を加えることで，G:C T:A 塩基置換の頻度がコントロールと比較して 8.2 倍と有意に上昇した．これは， $\text{pol } \gamma$ が 2-OH-dATP を G の向かいに誤って取り込みやすいことを示唆する．ヒトやマウスのミスマッチ修復欠損細胞において，2-OH-dATP や 8-OH-dGTP を分解する酵素であるヒト MTH1 を高発現させると G:C T:A 塩基置換が著しく減少することが示されている¹⁾．ヒトが備える他の DNA ポリメラーゼにおいて，2-OH-dATP を G の向かいに取り込むことを示す報告がないことから， $\text{pol } \gamma$ がヒトやマウスにおける G:C T:A 塩基置換の誘発に関与している可能性がある．

同様にヒト DNA ポリメラーゼ による *in vitro* DNA 合成の際に，正常 dNTPs と等量の 8-OH-dGTP (200 μM) を加えることで，A:T C:G 塩基置換が 17 倍に増加した．A:T C:G 塩基置換の発現頻度を絶対数で評価すると，他の DNA ポリメラーゼのそれと比較して極めて高く，アデニン 10 塩基あたり 1.2 個の頻度であった．これらの結果から， $\text{pol } \gamma$ はどの DNA ポリメラーゼよりも 8-OH-dGTP を A の向かいに誤って取り込みやすいことを示唆する．さらに，正常 dNTPs と等量の 8-OH-dGTP を加えた場合，他の DNA ポリメラーゼでは認められていない²⁾，欠失や挿入といったフレームシフト変異が増加したことは特筆すべきである．既存研究では，MTH1 欠損マウスではフレームシフト変異が増加すること，またヒトやマウスのミスマッチ修復欠損細胞においてヒト MTH1 を高発現させるとフレームシフト変異が減少することが示されている．これらの事実から， $\text{pol } \gamma$ は 8-OH-dGTP の取り込みによってヒトやマウスの細胞におけるフレームシフト変異の増加に寄与している可能性がある．

また，ヒト DNA ポリメラーゼ は，*in vitro* DNA 合成時に正常 dNTPs と比して 1/1000 という低濃度の 8-OH-dGTP 存在下であっても，8-OH-dGTP を DNA 中に取り込むことで変異誘発性を示した．8-OH-dGTP の濃度がより生体内に近い低濃度の場合においても突然変異頻度の上昇が確認されたという点で意義があったと言える．

1) M. T. Russo et al. / Mol. Cell. Biol., 24 (2004) 465-474

2) A. Egashira et al. / DNA repair 1 (2002) 881-893