

30-0192

DNA ポリメラーゼ η による 8-ヒドロキシグアニン誘導変異における配列特異性
○奥川 洋司¹, 大塚 智恵¹, David Loakes², 根岸 和雄¹(¹岡山大自生科研支セ, ²MRC, UK)

生体内に過剰に発生した活性酸素による DNA 損傷は、突然変異、発がん等の原因となっている。これらを含む DNA 損傷の中には、通常の DNA 複製ポリメラーゼの進行を阻害してしまう損傷が多く報告されている。そのような現象を回避するため、細胞には、損傷を乗り越えて複製を行う DNA ポリメラーゼが多数備わっている。この DNA ポリメラーゼは、損傷の種類や配列により非常に異なるバイパス特性を示すことが知られている。そこで、損傷乗り越え複製ポリメラーゼの一つである DNA ポリメラーゼ η (Pol η) に着目し、これまで酵母オリゴヌクレオチド形質転換法を用い、8-ヒドロキシグアニン (8-oxoG) を導入し、その変異誘導の配列特異性について解析を行ってきた。その結果、5'-GG 配列の 5' 側 G、5'-AG 配列の G が 8-oxoG に変化した配列において、Pol η をコードする *RAD30* 遺伝子を破壊することにより 8-oxoG が有意な変異頻度の上昇を示した。すなわち Pol η が配列に依存して変異を抑制していた。そこで、形質転換に用いたオリゴヌクレオチドに蛍光ラベル並びに ³²P ラベルしたプライマーをアニールし、酵母の Pol η による DNA 鎖伸長反応におけるヌクレオチドの取り込み特性を解析し、*in vivo* と同様の塩基配列特性が見られるかどうか調べた。

その結果、どの配列においても 8-oxoG による著しい鎖伸長阻害は見られなかった。5'-ohG-G-3'、5'-A-ohG-3' の二種類の配列では、Pol η は誤った A よりも正しい C を挿入する活性が高いことが分かった。現在、8-oxoG に隣接するヌクレオチドをその他のヌクレオチドに置換した配列についても解析を行っており、Pol η 自身が配列特異的に変異を抑制しているのかどうかを解析中である。