

氏名	黄 和 信
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1414号
学位授与の日付	平成7年9月30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	哺乳動物細胞における dNTP Imbalance Death の分子機構 - 5-Fluorodeoxyuridine の作用機構 -
論文審査委員	教授 早津 彦哉 教授 大森 晋爾 教授 滝川 正春 教授 白石 友紀 教授 佐藤 公行

学位論文内容の要旨

核酸代謝拮抗剤である5-fluorodeoxyuridine(FUdR)を作用させると細胞内 deoxyribonucleoside 三リン酸 (dNTP) の不均衡が生じ、DNAの断片化及びそれに伴う細胞死(dNTP Imbalance Death) が引き起されることが観察された。この分子機構を解明するため、細胞死の直接の原因であると考えられるDNA二本鎖切断酵素の精製を行いその性質を調べた。Mouse 乳癌由来 FM3A 細胞に FUdRを作用させ dNTP pool に不均衡を誘導した細胞を集め超音波破碎した後、超遠心して上清を得た。この上清からDNA二本鎖切断酵素を精製した。精製したDNA切断酵素を、DNAを含むSDS-PAGEにより解析した結果、分子量は約4万であった。この酵素は二価金属イオンを要求せず至適 pH は約 6.0 - 6.5 であり apoptosis の特徴である nucleosome 単位の DNA 断片が生じた。また、flowcytometer による解析と細胞の形態的变化からこの dNTP Imbalance Death は apoptosis と同種の細胞死であることが分った。この結果から、今度精製したDNA二本鎖切断酵素は、細胞に変異などが起こると誘導もしくは活性化され、その細胞の DNA を切断し自ら死滅させる作用を持つ、apoptosis に関係する新規のエンドヌクレアーゼであることが分った。

論文審査結果の要旨

核酸代謝拮抗剤である5-fluorodeoxyuridine(FUdR)を作用させると細胞内 deoxyribonucleoside 三リン酸 (dNTP) の不均衡が生じ、DNAの断片化及びそれに伴う細胞死 (dNTP Imbalance Death) が引き起こされることが観察された。この分子機構を解明するため、細胞死の直接の原因であると考えられるDNA二本鎖切断酵素の精製を行いその性質を調べた。Mouse 乳癌由来 FM3A 細胞に FUdR を作用させ dNTP pool に不均衡を誘導した細胞を集め超音波破碎した後、超遠心して上清を得た。この上清からDNA二本鎖切断酵素を精製した。精製したDNA切断酵素を、DNAを含むSDS-PAGEにより解析した結果、分子量は約4万であった。この酵素は二価金属イオンを要求せず至適 pH は約 6.0 - 6.5 であり apoptosis の特徴である nucleosome 単位の DNA 断片が生じた。また、flowcytometer による解析と細胞の形態的变化からこの dNTP Imbalance Death は apoptosis と同種の細胞死であることが分かった。この結果から、今度精製した DNA 二本鎖切断酵素は、細胞に変異などが起こると誘導もしくは活性化され、その細胞の DNA を切断し自ら死滅させる作用を持つ、apoptosis に関する新規のエンドヌクレアーゼであることが分かった。

以上の研究は、博士の学位論文に値すると判定した。