



Title	ニトロソグアニジンによる突然変異誘発機構
Author(s)	山本, 和生
Citation	大阪大学, 1975, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31137
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【4】

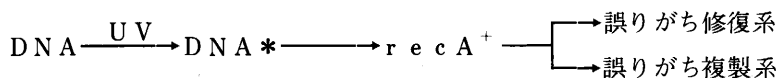
氏名・(本籍)	山 ^{やま} 本 ^{もと} 和 ^{かず} 生 ^お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 3 3 1 0 号
学位授与の日付	昭 和 50 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ニトロソグアニジンによる突然変異誘発機構
論文審査委員	(主査) 教 授 近藤 宗平 (副査) 教 授 松代 愛三 教 授 大久保舜三

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ニトロソグアニジンは、簡単な化合物でよく水に溶け、しかも極めて強い突然変異誘発性と発がん性を持つことで有名である。しかしその作用機序は、突然変異について、DNA複製と関連していることが示唆されているにすぎない。突然変異及びがんの原因については、遺伝物質 DNA に生じた損傷—DNA 説—と、たん白質、膜などに生じた損傷—非 DNA 説—が相対立してきた。本研究は分子レベルでの解析の便宜上、突然変異を指標として、ニトロソグアニジンの作用機序を明らかにしようとしたものである。特に、紫外線的作用主因が DNA 損傷であるという事実に対比して、ニトロソグアニジンが非 DNA 因子に作用して突然変異を起こしうるといふ仮説の証明に、研究の重点をおいた。

紫外線、4NQO、X線などの主因が DNA 損傷である変異原は、大腸菌やファージに対し、突然変異を誘発するが、その分子的過程には、大腸菌 rec A 遺伝子の作用が不可欠である。即ち、大腸菌 rec A⁻株では、これらの作用原によって、変異は誘発されない。紫外線を例にとれば、作用機序は次の様に考えられている：



注目している遺伝子座に傷が生じる。傷つきのまま遺伝子が複製され2個になるが、その時働く誤りがち修復系の修復誤りで変異遺伝子が生じる。又、注目している遺伝子座に傷が無くても、ゲノム DNA のあちこちに傷が生じ、rec A 遺伝子の作用を経て誤りがち複製系が起り、その結果無傷遺伝子

にも変異がおこる。

一方ニトロソグアニジンは、大腸菌 $rec A^-$ 株にも変異を誘発する。この事実より、ニトロソグアニジンは非 DNA 因子に作用して、 $rec A$ 遺伝子の作用によらずに誤りがち複製系を誘導し、無傷遺伝子が変異遺伝子になるという仮説が得られる。この仮説の証明をここに提出したい。

〔方法ならびに成績〕

(1) ファージ感染宿主菌の丸ごとニトロソグアニジン(NG)処理によるファージ突然変異。

$\lambda C17$ 感染菌を丸ごと NG で $0^\circ C$ 1 時間処理し、 $\lambda C17$ クリアー型からビルレント型へ (実は主に $CI^+ \rightarrow CI^-$ の変化をみている) の突然変異の頻度をみた。感染菌が野生株でも $rec A^-$ 株でも非常に高い変異の誘発がみられた。この場合 NG は、① $\lambda C17$ の CI 遺伝子座 ② 宿主菌の DNA ③ 非 DNA, に作用していると考えられる。

(2) 宿主菌のみの NG 処理によるファージの突然変異。

宿主菌を NG で $0^\circ C$ 1 時間処理後、無処理 $\lambda C17$ を感染させ、同様に突然変異の頻度をみる。宿主が野生株でも $rec A^-$ 株でも、 $\lambda C17$ に変異誘発がみられたが、野生株の方が $rec A^-$ 株よりも少し高い頻度であった。但し、 $\lambda C17$ 感染菌丸ごと処理の場合よりは低い頻度であった。宿主菌のみ NG 処理の条件では、 $\lambda C17$ の CI 遺伝子座には傷は無く、② 宿主菌の DNA ③ 非 DNA, に NG は作用していると考えられる。

NG 処理した宿主菌に、紫外線照射 $\lambda D17$ を感染させ、 $\lambda C17$ の突然変異をみると、ファージ感染宿主菌を丸ごと NG 処理した時の $\lambda C17$ 変異頻度と等しかった。この時、① 紫外線障害 $\lambda C17$ の CI 遺伝子座 ② NG 障害宿主の DNA ③ NG 障害非 DNA 因子、の3者の総合的效果と考えられる。

(3) NG による DNA 障害の存在とその生物作用

NG 処理した雄の大腸菌 F^+ 株を雌株とかけ合わせると、NG の傷を持った DNA が雌に移行する。もし雌を予め溶原化しておくのと、移行した DNA 上の NG の傷によって雌の DNA に組み込まれていたファージが誘発された。この DNA 上の NG の傷は、しかし、 $\lambda C17$ の突然変異を高めることができなかった。

〔総括〕

NG の突然変異誘発作用は、DNA 上の傷だけでなく、非 DNA 上の傷との総合的效果であるとの証拠を得た。DNA 損傷のうち、ゲノムバックグラウンドに生じた損傷(②)は、大腸菌の場合、主に $rec A$ 遺伝子の作動を刺激して、誤りがちの修復系、誤りがちの複製系を誘発する。他方注目している遺伝子座にも傷(①)が生じる。②が①に作用して、高い変異率を生み出す。しかし NG は非 DNA 因子にも作用して傷(③)を与え、恐らく誤りがちの複製が誘導され、無傷の遺伝子にも突然変異が高まるものと解釈している。三者による変異誘発力の比は、ほぼ次の通りであった。(①+②+③):(②+③):② = 100:10:1

論文の審査結果の要旨

目 的：

ニトロソグアニジンは強力な発癌作用と突然変異作用をもつが、その作用機序はまだ解明されていない。本論文は、ファージλの突然変異を指標にしてこの問題の解明を試みた実験の成果を示したものである。この手法の利点は、注目している遺伝子をその複製機構（宿主大腸菌内にある）と分離して調べられる点にある。

結 果：

ニトロソグアニジンは、①注目している遺伝子 DNA の部分、②宿主の DNA、③宿主の非 DNA 成分、の三者に傷をつける。三者の傷が共存するとき変異率は最高であるが、③のみでもかなりの突然変異を生じる。

考 察：

DNA の損傷が突然変異や発癌の原因である証拠は数多くしられているが、他方それだけでは変異や癌がなかなか起らないこともまた事実である。

本論文は、非 DNA 成分への変異(発癌)原の作用だけで突然変異が起こることを証明した点で価値がある。