

O-7

M13mp2 フェージ 1 本鎖, および 2 本鎖 DNA に対する単色 UVB 照射の変異作用

○根岸和雄, 川上朝子, 奥川洋司, 大塚智恵 (岡山大学・遺伝子実験施設)

Mutagenic action of monochromic UVB irradiation on M13mp2 DNA

Kazuo NEGISHI, Asako KAWAKAMI, Yoji OKUGAWA, Chie OTSUKA (Gene Research Ctr., Okayama Univ.)

【目的】太陽光はフェージ M13mp2 に対してグアニン特異的な興味深い変異特性を示す。このメカニズムを探るため、フェージ粒子、または精製 DNA に対して単色の UVA, UVB 照射を行って、変異の解析を進めている。今回は、UVB を精製 DNA に照射し、その変異を解析した。

【方法】照射は、基礎生物学研究所大型スペクトログラフを用いて行った。M13mp2 フェージ粒子より精製した一本鎖 DNA の水溶液を光路長 1 mm の石英キュベットにいれ、80 kJ/m² の 313 nm 単色光を照射した。照射した DNA を、あらかじめ SOS 誘導を行った大腸菌にエレクトロポレーション法により導入し、X-gal, IPTG を含むプレート上で、*lacZ* 変異体を選抜した。選んだ変異体から DNA を抽出して *lacZ* α 領域の DNA 塩基配列を決定し、変異スペクトラムを解析した。

【結果】照射により、変異頻度は 3.7×10^{-5} から 11×10^{-5} に約 3 倍上昇した。変異スペクトラムを調べたところ、挿入・欠失変異が半分以上を占めていた。塩基置換では C, A, G の変異が観察され、特異的な塩基置換は見られなかった。今回の結果は、以前に行ったフェージ粒子の 313 nm 照射で誘導される変異の大部分が塩基置換であったことと大きく異なっている。現在、2 本鎖 DNA を照射した際の変異スペクトラムもあわせて解析し、DNA の状態や UV の波長と変異特性との関係の研究を進めている。

O-8

放射線誘発突然変異の原因となる長寿命ラジカル

○渡邊正己¹、児玉靖司¹、鈴木啓司¹、熊谷純²、宮崎哲郎² (¹長崎大・院・医歯薬学総合、²名古屋大・院・工学)

Long-lived radical as a cause of radiation mutagenesis

Masami WATANABE¹, Seiji Kodama¹, Keiji SUZUKI¹, Jun KUMAGAI², Tetsuo MIYAZAKI² (¹Grad. Sch. Biomed. Sci., Nagasaki Univ., and ²Grad. Sch. Eng., Nagoya Univ.)

電離放射線による生物効果は、DNA に対する直接作用と生体水の放射分解によって生ずる OH ラジカルなど活性の高いラジカルによる間接効果によって起きると推測されている。その効果は、直接効果 1 に対し間接効果 3 の割合であり、活性の高いラジカルによる間接効果が放射線の生物効果発現の主役を占めると信じられてきた。しかし、OH ラジカルなど活性の高いラジカルの細胞内寿命は、200 ナノ秒を越えることがないこと、かつ、水分に富む細胞内における消滅までの移動距離は 0.5 μm 以下と極めて短いと計算されることなどの理由から、生じた活性ラジカルが実際に DNA まで移動し DNA 損傷を生じさせる主因とは考えにくいと考えられるようになってきた。そこで、今回、我々は、ESR 装置の測定感度を向上させ、細胞内に生じたラジカルを直接観察し突然変異誘導に関わるラジカルの特定を試みた。

その結果、常温における半減期が 20 時間を越える極めて安定な高分子ラジカルが細胞内の S 含有アミノ酸に生ずることを発見し、このラジカルの消長と細胞の突然変異頻度間に密接な相関があることを発見した。この長寿命ラジカルは、5mM ビタミン C の 2 時間処理で効果的にスクャベンジされ、その消滅に伴って 6TG 抵抗性を指標とした突然変異の誘発が著しく抑制される。しかし、ビタミン C 処理によって細胞の生存率は全く変化しない。さらに、驚くべきことに、ビタミン C 処理による坑変異原作用は、放射線照射後、数時間を経た後であっても有効であることがわかった。

これらの結果を総合すると、放射線による突然変異は、我々が発見したアミノ酸に生ずる長寿命ラジカルが原因となって誘導されることが明確であり、“DNA 損傷—染色体異常—細胞死あるいは突然変異”という突然変異の誘導機構に対するこれまでの定説に疑問を投げかけるものである。