

氏 名	やすかわ たかし <b>安川 隆司</b>
学位(専攻分野)	博 士 ( 学 術 )
学 位 記 番 号	博 甲 第 758 号
学 位 授 与 の 日 付	平成 27 年 9 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	工芸科学研究科 生命物質科学専攻
学 位 論 文 題 目	ショウジョウバエの DNA グリコシレース Ogg1 の酸化損傷修復における役割に関する研究ならびにショウジョウバエ遺伝学の生物教育への応用
審 査 委 員	(主査)准教授 井上喜博 教授 山口政光 教授 伊藤雅信

### 論文内容の要旨

本論文は 5 章で構成されている。第 1 章に緒論、第 2 章、第 3 章にショウジョウバエの酸化損傷に対する修復機構に関する基礎研究と応用研究の成果について、さらに第 4 章ではショウジョウバエの研究手法を高校の生物教育に応用した新たな教材開発について、最後に第 5 章で総合考察を述べている。

第 2 章では、ショウジョウバエ成虫を用いた酸化ストレス産生物質ならびに抗酸化物質の簡易的探索システムの開発について述べている。ショウジョウバエの活性酸素除去酵素 Cu/Zn-SOD(superoxide dismutase)をコードする遺伝子 *Sod1* の突然変異体成虫やノックダウン成虫において同遺伝子の発現を低下させると、活性酸素を産生させるパラコート(1,1'-ジメチル-4,4'-ジピリジニウムクロリド)に高感受性になることを明らかにしている。これを利用して抗酸化能を示す化学物質や同効果を生化学的手法で確認した植物(茶葉)成分を上記成虫に与えると寿命延長効果を示すことがわかった。この方法は抗酸化作用をもつ物質の探索に有効であると結論している。

第 3 章では、DNA が酸化損傷を受けたときに、酸化塩基を除去して損傷を修復させる機能を持つショウジョウバエの遺伝子について述べている。特にグアニン塩基の酸化は DNA の塩基置換につながる。大腸菌ではこれを除去する酵素を作る *MutM* 遺伝子が報告されているが、昆虫ではそれに関する研究は殆どなかった。*MutM* と相同なショウジョウバエ遺伝子 *CG1795* が酸化グアニンの除去に必要か検討した。同遺伝子座にトランズポゾンが挿入した変異体やその二本鎖 RNA の発現により、同遺伝子の発現が低下することをリアルタイム PCR 法で確認した。次に、パラコートを摂食させると消化管上皮の細胞核内に酸化グアニンが蓄積することを示した。さらに同遺伝子の発現量に応じて体内の 8-oxo-guanine の蓄積量が変化することを明らかにした。これらの結果によって、同遺伝子がショウジョウバエにおいて酸化グアニンの蓄積の抑制に必須な *Oxoguanine glycosylase* をコードする *Ogg1* 遺伝子であると結論している。さらにその大量発現だけで寿命が有意に延長することを明らかにした。DNA の酸化損傷の修復能が生体老化の鍵をにぎる可能性について考察している。

第 4 章では、ショウジョウバエの研究を進める中で、この実験動物が有する利点が生物教育に

おいても有効なツールになると考え、高校生物の中で最も難解な遺伝分野の理解を助ける教材の開発について述べている。これらの教材が遺伝学に対する高校生の興味関心を促進し、遺伝子の独立・連鎖を理解させるのに有効であったと結論している。

## 論文審査の結果の要旨

薬剤や農薬の中には、強い酸化力を持つ有害物質を生体内で発生させるものがある。それらの物質の蓄積が老化や種々の病気の原因になると考えられている。逆に抗酸化物質は老化を抑制する効果があるとされる。これらの物質の探索には、おもに試験管内の測定法が使われているが、それでは生体への影響がわからない。一方、マウスなどに投与して効果を見る方法には時間と経費がかかるという問題があった。申請者は、この課題を解決するため、飼育が容易で、結果が早く得られるショウジョウバエに着目し、簡便かつ安価で迅速な生体検査法を開発した。とくに上記有害物質の除去に必要な遺伝子を欠損させて、それに対する感受性を高めた系統を用いた検査法を確立させている。この方法は通常の試験管内の測定法に遜色がない感度を示し、生体への効果を直接調べる事ができる。経費や時間も節約できるという点で優れた生体検査システムとして高く評価できる。実際にこの方法は産学連携研究で使われ始めており、今後、広く普及することが期待される。

さらに申請者は応用研究だけでなく、生物学の基礎研究にも成果を上げている。DNA が酸化損傷を受けた際に酸化塩基を除去する遺伝子として、ショウジョウバエの *Ogg1* 遺伝子を同定した。ショウジョウバエでは DNA 損傷の修復機構の研究が古くから盛んであるが、酸化損傷修復に関しては不明な点が多く残っていた。申請者は、大腸菌の酸化損傷修復遺伝子 *MutM* と相同性を示すショウジョウバエの *CG1795* 遺伝子を低下させると酸化グアニンが過剰に蓄積すること、逆に同遺伝子の発現を上昇させると蓄積がなくなることを示し、酸化塩基を除去する必須遺伝子 *Ogg1* (*Oxoguanine glycosylase 1*) を同定した。さらに、同遺伝子を過剰発現させるだけで酸化ストレスに抵抗性になること、成虫寿命がコントロールの 60 % 延長することを示した。この結果から、DNA の酸化損傷を修復する遺伝子が生体老化の鍵となる可能性あると考察している。寿命を延長させる「長寿遺伝子」については、過去に別の *Sirtuin* 遺伝子にその働きがあるとの論文が出てセンセーションを巻き起こしたが、その後否定されている。今回の申請者の研究結果から新たな長寿遺伝子が発見される可能性もあり、大変興味深い。

また、申請者は現役の高校教員でもあるので、ショウジョウバエの研究手法を用いて高校生物の中でもとくに難解な遺伝分野の理解を助ける教材開発もおこなっている。文科省の指導要領の改訂にともない、教科書に記載された遺伝分野の内容が減っているので、これを補うための教材として実際の教育効果があがったという結果も記載されている。大学で得られた研究成果を社会に役立てることができた点は評価に値する。

学位論文は 4 章から構成されており、適切かつ明確な文章で記載されていた。クリアな結果も得られており、論旨も明解であった。本学位論文の内容は、申請者を筆頭著者とする学術誌 2 編 (国際学術誌 (査読あり)、国内学会誌 (査読あり)) にすでに発表済みである。

- 1) Takashi Yasukawa, Yasuyuki Nakahara, Jun Hirai and Yoshihiro H. Inoue *Drosophila Ogg1* is required to suppress 8-oxo-guanine accumulation following oxidative stress.

Genes & Genetic Systems (2015) 90, pp. 11–20

2) Takashi Yasukawa and Yoshihiro H. Inoue

Development of teaching materials for the comprehensive understanding of Mendelian inheritance and the further understanding of genetic independence, linkage and recombination by using *Drosophila melanogaster*. Japanese Journal of Biological Education, (2015) 55, pp. 74- 83

また参考文献にあげる以下の国際学術誌 1 編にも研究成果の一部が発表されている。

1) Saori Oka, Jun Hirai, Takashi Yasukawa, Yasuyuki Nakahara and Yoshihiro H. Inoue

A correlation of reactive oxygen species accumulation by depletion of superoxide dismutases with age-dependent impairment in the nervous system and muscles of *Drosophila* adults.

Biogerontology, (2015) 16, pp. 485-501