

***Thermus thermophilus* HB8 の DNA ミスマッチ修復システム**福井健二¹, 飯野均^{1,2}, 満足美穂^{1,2}, 中川紀子^{1,2}, 増井良治^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}Kenji fukui¹, Hitoshi Iino^{1,2} Miho Manzoku¹ Noriko Nakagawa^{1,2} Ryoji Masui^{1,2} and Seiki Kuramitsu^{1,2}(¹理研・播磨研, ²大阪大学・院理)(¹RIKEN/Harima Inst., ²Osaka Univ. Grad. Sch. Sci.)

e-mail: k.fukui@spring8.or.jp

DNA 修復システムのひとつミスマッチ修復システムは、主に DNA ポリメラーゼのエラーにより生じたミスマッチ塩基対を修復することで、DNA 複製の忠実度を 1000 倍以上も高めている。ミスマッチ修復システムに関与する酵素群はバクテリアからヒトまで高度に保存されており、ヒトではそれらの異常が家族性非ポリポーシス大腸/直腸癌の原因であることが知られている。

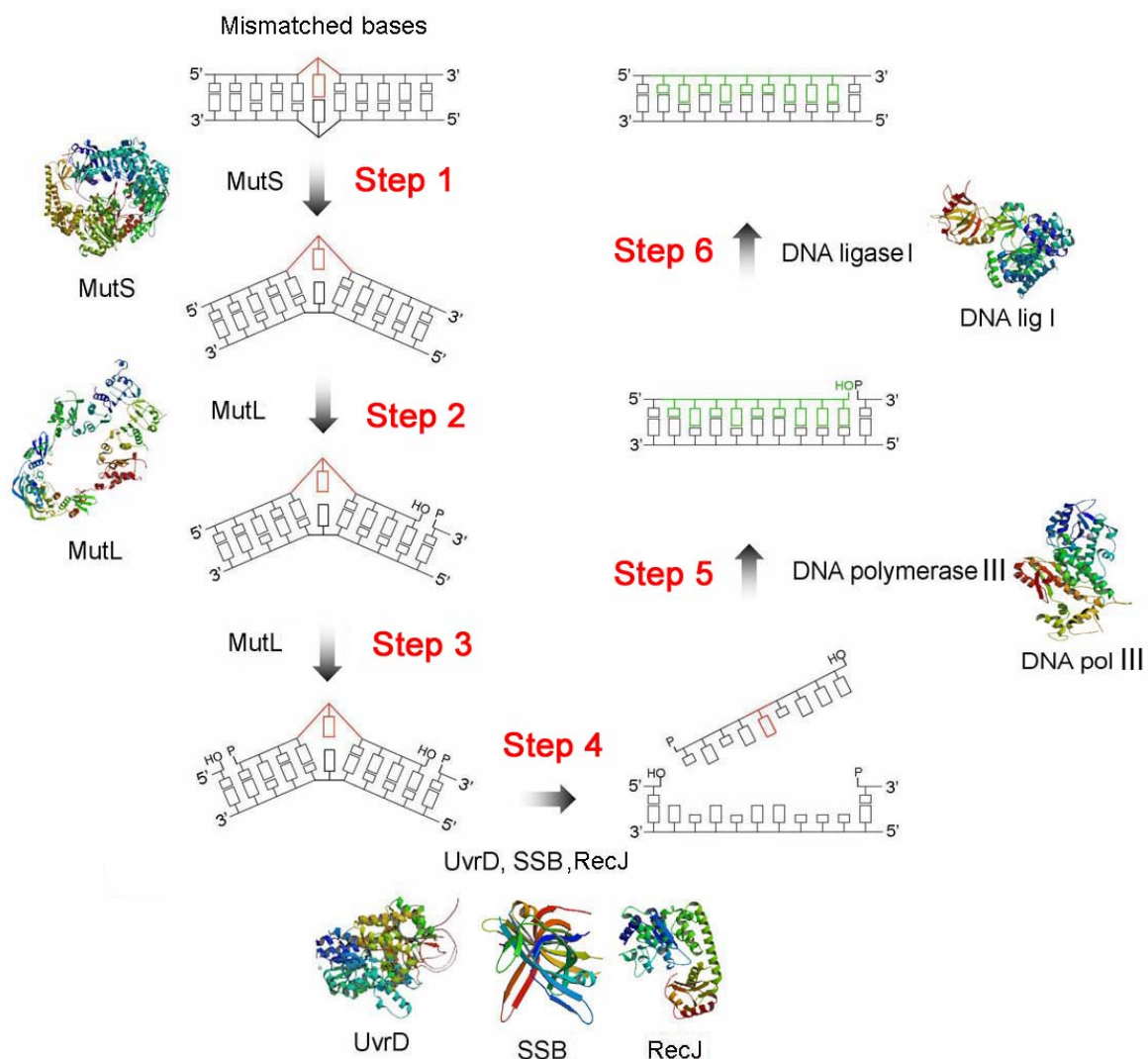


図 1: ミスマッチ修復系反応機構モデル

Step 1: MutS がミスマッチ塩基対を認識する。

Step 2: MutL が MutS-ミスマッチ複合体を安定化し、DNA 一本鎖切断 (切れ目) が導入される。

Step 3: MutL が DNA 一本鎖切断を、Step 2 で入れた切れ目の反対側にも導入する。

Step 4: UvrD が二本鎖 DNA をほどこき、SSB が一本鎖 DNA に結合して安定化、RecJ が末端から削り取ることにより、エラーを含む領域が除去される。

Step 5: DNA ポリメラーゼ III により修復合成が行われる。

Step 6: DNA リガーゼ I が切れ目を繋ぎ、修復が完了する。

ミスマッチ修復システムは、MutS によるミスマッチ塩基対の認識により開始される (図 1, Step 1)。続いて MutL が MutS-ミスマッチ複合体に相互作用し、安定化する (図 1, Step 2)。その後、エラーを含む新生鎖に切れ目が入れられ (図 1, Step 2, 3)、ミスマッチを含む領域の DNA が除去される (図 1, Step 4)。続いて DNA ポリメラーゼによる修復合成が行われ (図 1, Step 5)、DNA リガーゼがニックを再結合することで修復が完了する (図 1, Step 6)。エラーを含む新生鎖に切れ目を入れる活性については長らく同定されていなかったが、近年、ヒト MutL ホモログがエンドヌクレアーゼ活性をもつことが報告され、ミスマッチ修復システムの反応機構モデルが提唱された [1]。しかし、依然として、MutL エンドヌクレアーゼ活性の調節機構、MutL ATPase 活性の意義など、反応機構には未解明の点が多く残されていた。

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 のミスマッチ修復酵素群は、ヒトを含めた真核生物の酵素群と相同性の高いアミノ酸配列を持つが、タンパク質が安定で構造機能解析に適していることが知られている。そこで、モデル生物として本高度好熱菌が適していると考え、この生物のミスマッチ修復系酵素群についての分子機能解析を行った。高度好熱菌 MutL はヒト MutL ホモログと同様のエンドヌクレアーゼ活性を持ち、その活性は細胞内での DNA 修復に必須であった。大腸菌 MutL ではこのような活性は報告されていない。また、MutL エンドヌクレアーゼ活性が ATP 結合依存的に抑制されることを発見し、その活性抑制が DNA 修復に必要であることを示した。さらに、MutL の DNA への結合は、ATP、ミスマッチおよび MutS 存在下で促進されることも明らかにした [2]。これらの結果から、ヒトを含めた多くの生物に共通のミスマッチ修復系初期反応機構モデルを提案する (図 2)。さらに、システム生物学的解析のための試験管内再構成の試みについても紹介する。

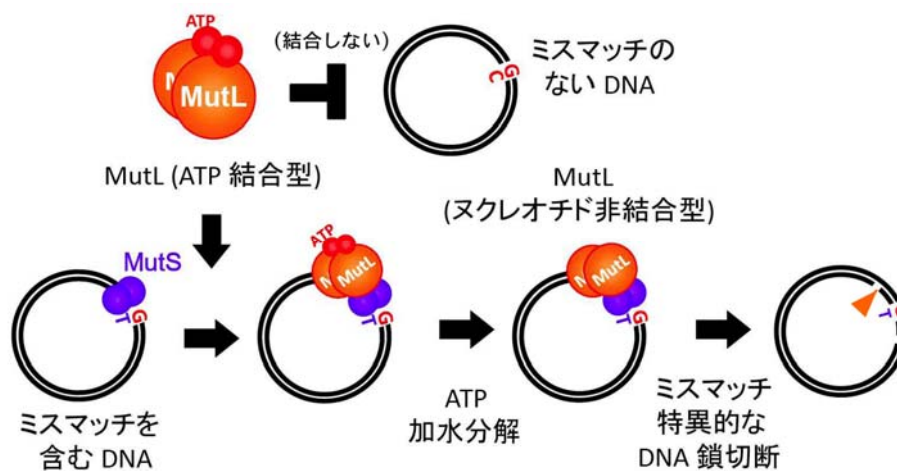


図 2: ミスマッチ修復系初期反応モデル

References

- [1] Kadyrov, F. A., Dzantiev, L., Constantin, N. and Modrich, P. (2006) *Cell*, 126, 297-308.
- [2] Fukui, K., Nishida, M., Nakagawa, N., Masui, R. and Kuramitsu, S. (2008) *J. Biol. Chem.*, 283, 12136-12145.