

高度好熱菌由来 endonuclease IV の機能解析

Functional analysis of the endonuclease IV from *Thermus thermophilus* HB8浅野瑠一¹, 中川紀子^{1,2}, 増井良治^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}Ryuichi Asano¹, Noriko Nakagawa^{1,2}, Ryoji Masui^{1,2}, and Seiki Kuramitsu^{1,2}(¹ 阪大・院理・生物科学, ² 理研・播磨研)¹Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ²RIKEN SPring-8 Center, Harima Inst.e-mail: niur@bio.sci.osaka-u.ac.jp

自然界において DNA 傷害は常に発生しており、一般的な DNA 傷害には酸化、脱アミノ化、アルキル化といった損傷塩基、そして脱塩基反応による apurinic/apyrimidinic (AP) サイト (脱塩基部位) が存在する。これらの DNA 傷害は複製障害や変異の原因となるため、DNA 傷害を修復する経路の一つとして塩基除去修復系 (BER) がある。BER には複数の経路が存在し、その中の一つの経路では、損傷塩基は DNA glycosylase によって除去され、AP サイトが生じる。脱塩基反応によって自然に生じたものも含め、AP サイトの 5'側を AP endonuclease (APE) が切断することにより、5'-deoxyribose phosphate と 3'-OH を持つ nick が生じる。この生じた nick から DNA polymerase が DNA 合成を行うことによって、DNA が修復される。APE としてはヒトの APE1 や APE2、大腸菌の exonuclease III や endonuclease IV (EndoIV) がよく知られている。これらは APE 活性だけでなく、3'-phosphatase 活性や 3' phosphodiesterase 活性、3'-5' exonuclease 活性も持っている。しかしながら、APE 活性以外の活性がどのような経路や過程で働いているのかは不明であり、興味深い。また、EndoIV はヒトを含むほとんどの哺乳類には存在しないため、抗菌剤開発の対象にもなっている。

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来の EndoIV (ttEndoIV) は、大腸菌やヒトの APE 同様に APE 活性を持っていた。しかし、活性に必須の金属イオンの結合が弱く、他種の EndoIV とは異なり EDTA 処理によって金属イオンが脱離した。また、Mg 存在下でのみ 3'-5' exonuclease 活性が確認され、更には大腸菌 EndoIV では確認されていない U を含む基質に対する endonuclease 活性も見られた。本発表では、現在行っている X 線結晶構造解析による ttEndoIV の立体構造 (図 1) と、同じ好熱菌の *Geobacillus kaustophilus* の EndoIV (gkEndoIV) の立体構造 (図 2) に基づいて、これらの活性の違いについて議論する。

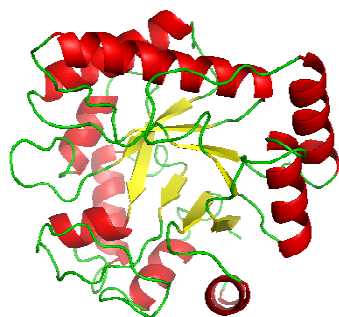


図 1. ttEndoIV の立体構造

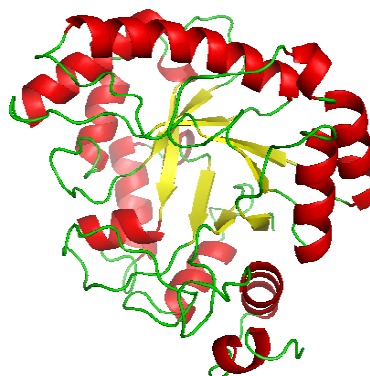


図 2. gkEndoIV の立体構造