

高度好熱菌由来 DNA 修復系酵素 Endonuclease V の分子機能解析
Molecular functional analysis of DNA repair enzyme Endonuclease V
from *Thermus thermophilus* HB8

井上真男¹, 中川紀子^{1,2}, 増井良治^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}

Masao Inoue¹, 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/Harima Inst.)

e-mail: masao@bio.sci.osaka-u.ac.jp

DNA 修復系にはその傷害の種類によって様々な経路が存在し, DNA 傷害の代表的なものとして脱アミノがある。DNA を構成する 4 つの塩基のうち 3 つが脱アミノによって傷害塩基となる (図 1)。脱アミノは生体内で自然発生的に起こる反応であるため, その修復は生物にとって必要不可欠なものである。また, 一酸化窒素などの誘発物質によっても促進され, 突然変異の原因となり, ガンや細胞死を引き起こすことが知られている。Endonuclease V (EndoV) は脱アミノによって生じた傷害塩基の 3' 側の 2 番目のホスホジエステル結合を切断し, ニック (切れ目) を入れる酵素である。EndoV はニックを入れるだけで傷害を取り除くことはせず, その後の修復経路は全く解明されていない。EndoV はバクテリア, アーキアからヒトに至るまで広く保存されており, その DNA 修復システムは生物界において共通なものであると考えられる。そこで我々は高度好熱菌由来の EndoV (TtEndoV) の分子機能を調べるために, 大腸菌内で組換えタンパク質として発現, 精製し, これを用いて様々な傷害塩基を含むオリゴ DNA に対する活性測定を行った。

精製した TtEndoV は 80°C まで安定で, 溶液中では単量体として存在することが分かった。様々な傷害塩基を含むオリゴ DNA に対して活性測定を行ったところ, Mg^{2+} 存在下で Hyp 特異的なニッキング活性を示し, 一本鎖 DNA に対しても二本鎖 DNA に対しても活性の大きさは同じであった。また, Mn^{2+} 存在下においては Hyp だけでなく Xan や Ura, 脱塩基部位を含む DNA に対してもニッキング活性を示した。一方で, ミスマッチ塩基対や酸化傷害, アルキル化傷害を含む DNA に対してはニッキング活性を示さなかった。このことから TtEndoV のニッキング活性は脱アミノ傷害に特異的であることが示唆された。さらに, 質量分析計を用いて詳細な解析を行ったところ, Mn^{2+} 存在下で二本鎖 DNA 特異的な 5'-エキソヌクレアーゼ活性を示すことが明らかになり, これらの結果から TtEndoV による新しい DNA 修復系モデルを考察した (図 2)。

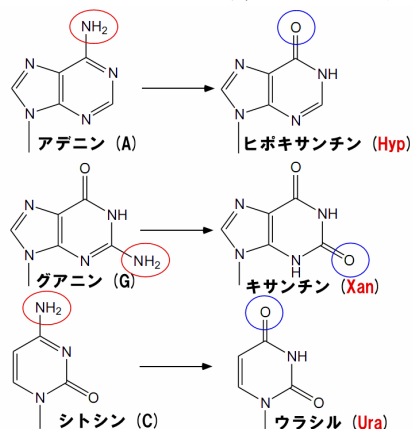


図 1. DNA の脱アミノ傷害

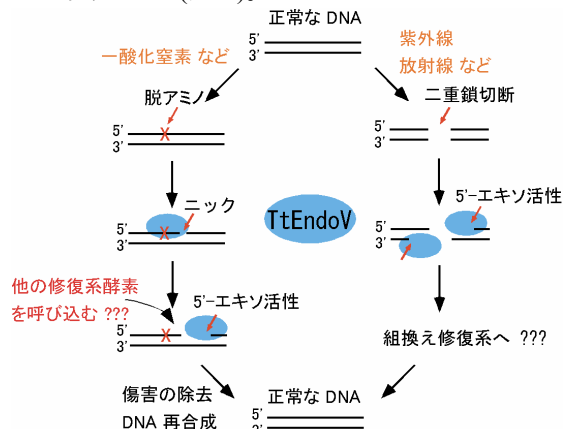


図 2. TtEndoV による DNA 修復系モデル