

新規ヌクレオチド除去修復システムに関わる
アルキル基転移酵素様タンパク質の機能解析

**Functional analysis of an alkyltransferase-like protein that involved in
a novel nucleotide excision repair system.**

森田理日斗¹, 中川紀子^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}, 増井良治^{1,2}

Rihito Morita¹, Noriko Nakagawa^{1,2}, Seiki Kuramitsu^{1,2}, Ryoji Masui^{1,2}

(¹ 阪大・院理・生物科学, ² 理研・播磨研)

(¹Dpt.Biol.Sci., Grad.Sch.Sci., Osaka Univ., ²RIKEN/Harima Inst.)

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

DNA のアルキル化は全ての塩基で起こり細胞毒性を示す. その主なアルキル化傷害の一つにグアニンの6位がメチル化されて生じる *O*⁶-メチルグアニン (*O*⁶-meG) があり, それは塩基誤対合やアポトーシスを引き起こすことが知られている. この傷害塩基を修復するために, ほとんど全ての生物種が *O*⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase (AGT) という酵素を持っている. この酵素は自身の活性部位のシステイン残基側鎖へアルキル基を転移させることにより DNA 中の *O*⁶-meG 傷害を直接的にグアニンへ修復する (図1). 近年のゲノム解析により, 従来のアルキル基転移酵素 AGT と高い配列類似性を示すにも関わらず, アルキル基が転移されるシステイン残基が他の残基に置換されているグループ, アルキル基転移酵素様 (ATL) タンパク質の存在が明らかとなった.

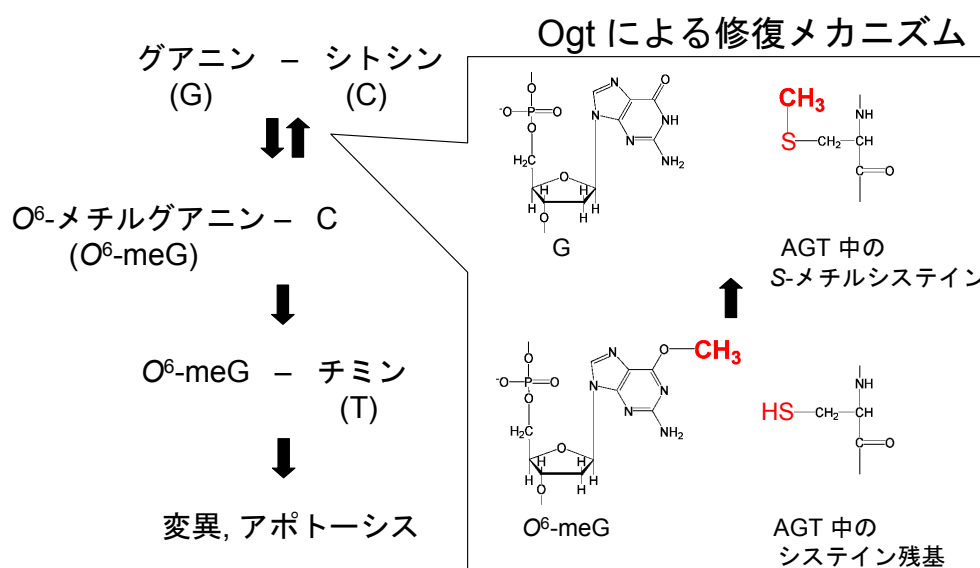


図1: DNA アルキル化傷害のひとつである *O*⁶-メチルグアニンの影響

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 は AGT を持たず, ATL 型のタンパク質 TTHA1564 のみを持つ. このような生物種におけるアルキル化傷害修復経路は全くの未知であり, 新たな傷害修復システムの存在が予想される. この新修復システムを解明するために, TTHA1564 を発現・精製し, 分子機能解析を行った. ゲルシフトアッセイの結果から TTHA1564 は一本鎖二本鎖を問わず *O*⁶-meG 傷害 DNA に特異的に結合することが明らかとなった. さらに蛍光測定により, 結合時には *O*⁶-meG 傷害塩基をフリップアウトさせていることが示された. また, TTHA1564 欠損株では自然突然変異発生率が野生

株に比べて高く, TTHA1564 の傷害修復への関与が間接的に示された. しかし, TTHA1564 単独では O^6 -meG からのメチル基転移活性は見られなかったため, TTHA1564 は他の因子と相互作用して修復に関わっていることが予想された. そこで, プルダウンアッセイによりそれらのタンパク質を探索したところ, RNA ポリメラーゼやヌクレオチド除去修復系タンパク質が同定された. これらの結果から, TTHA1564 を含む ATL タンパク質は, ヌクレオチド除去修復の基質認識に影響する新規修復システムを駆動する可能性が示唆された (図2).

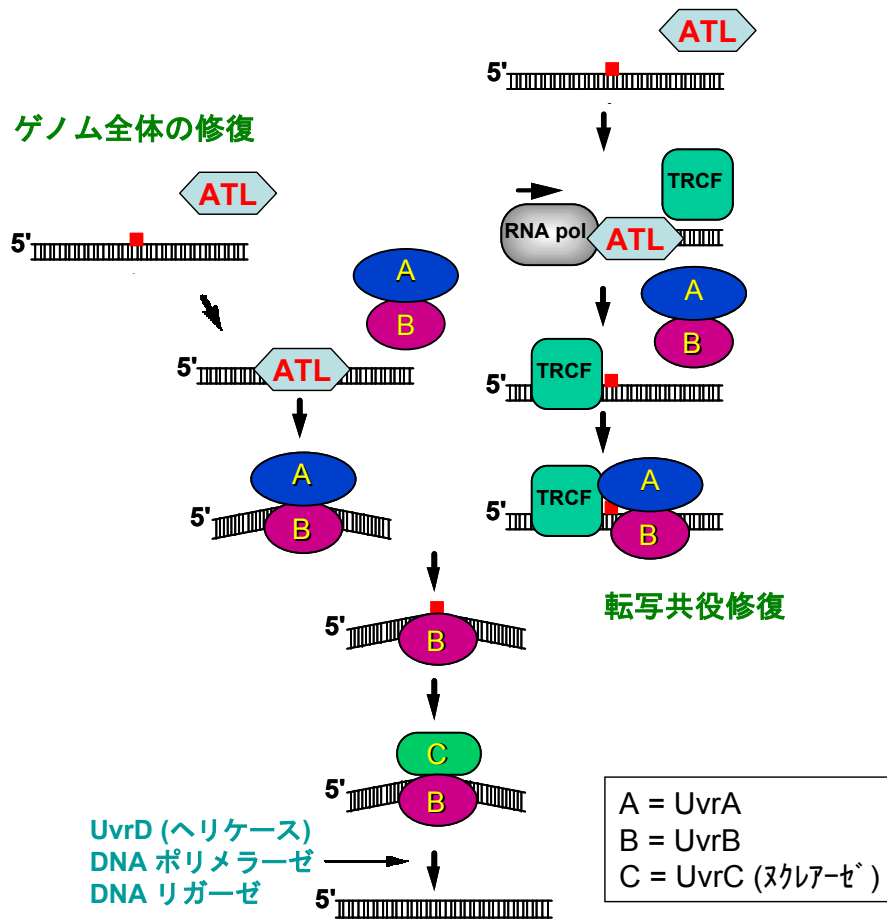


図2: 本研究から得られた ATL タンパク質による DNA 修復システムのモデル