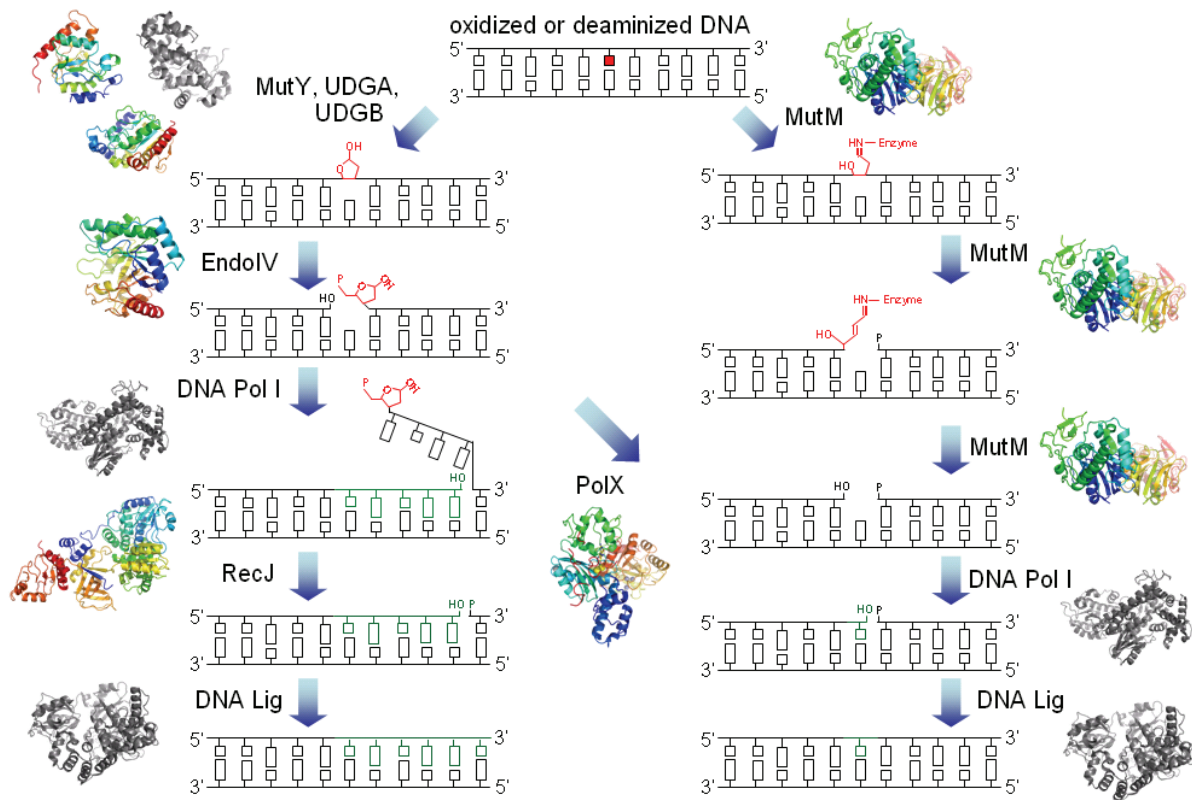


高度好熱菌 DNA 塩基除去修復系サブシステム: endonuclease IV

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¹ Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ² RIKEN 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傷害を受けた塩基、そして脱塩基反応による脱塩基部位 (apurinic/aprimidinic site (AP site)) などがある。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である塩基除去修復系 (base excision repair) によって修復される (図1)。塩基除去修復系には複数の経路が存在し、その中の一つの経路では、傷害塩基はDNA glycosylaseによって除去され、脱塩基部位が生じる。AP endonucleaseは、脱塩基反応によって自然に生じたものも含め、脱塩基部位の5'側を切断し、5'-deoxyribose phosphateと3'-OHを持つnickを生じる。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。

図1. 高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 の DNA 塩基除去修復系サブシステム

AP endonuclease は、構造から exonuclease III (ExoIII) と endonuclease IV (EndoIV) の2つのファミリーに分類することができ、ヒトは ExoIII に分類される APE1 や APE2 を、大腸菌は ExoIII と EndoIV の両タイプの AP endonuclease を持つことが知られている (表 1)。どちらのファミリーも AP endonuclease 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 活性以外の活性はヒトの APE2 において酸化傷害に関与している可能性が示唆された程度であり、どのような経路や過程で働いているのかは不明である。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。我々は、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 の DNA 塩基除去修復系サブシステム全体の理解を目指し、まず、*T. thermophilus* の EndoIV (ttEndoIV) について構造機能解析を行っている。

ttEndoIV は大腸菌やヒトの酵素と同様に AP endonuclease 活性を持っていたが、他種の EndoIV とは異なり、金属イオンが脱離しやすく、EDTA によって活性が著しく阻害された。また、Mn²⁺ 存在下でのみ 3'-5' exonuclease 活性が検出され、他の金属イオンでは検出されなかった。本研究ではこれらの活性の違いについて、Mn、Mg それぞれの金属と共結晶した ttEndoIV の構造解析の結果を報告する。

表 1. AP endonuclease の分布

Bacteria	ExoIII	EndoIV
Actinobacteria	○	○
Cyanobacteria	○	×
Firmicutes	○	○
Mollicutes	×	○
Proteobacteria	○	×
Spirochaetales	○	×
Other	○	○
Archaea		
Crenarchaeota	×	○
Euryarchaeota	×	○
Eukaryote		
<i>Homo sapiens</i>	○	×
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	○	○
<i>Danio rerio</i>	○	○
<i>Arabidopsis thaliana</i>	○	×

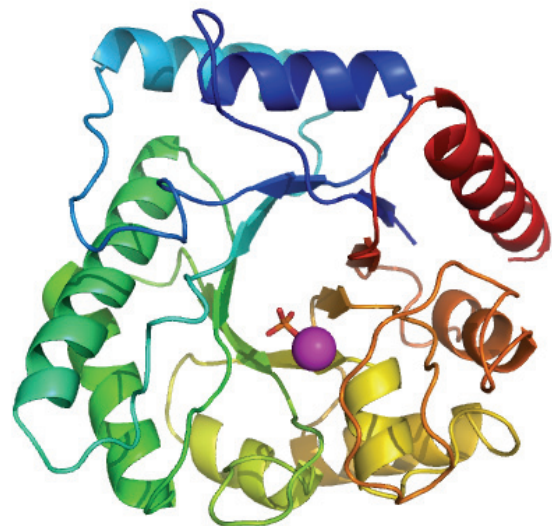


図 2. Mn と共結晶した ttEndoIV の構造