

MutS2 possesses a nuclease activity promoted by MutL and MutS

Kenji FUKUI¹, Ryoji MASUI^{1,2}, and Seiki KURAMITSU^{1,2}
(¹ Grad. Sch. of Sci., Osaka Univ., ² RIKEN Harima Inst.)

MutS および MutL によって活性化される MutS2 のヌクレアーゼ活性

福井 健二¹、増井 良治^{1,2}、倉光 成紀^{1,2}
(¹阪大・院理・生物、²理研・播磨研)

DNA 修復系のひとつ、ミスマッチ修復系の初期反応において、大腸菌では MutS、MutL、MutH による MutH/L/S system が機能している。この機構では、MutS ダイマーがミスマッチを認識し、そこに MutL が相互作用して、エンドヌクレアーゼである MutH を活性化するとされている(図 1)。MutS および MutL ホモログは、ほぼ全ての生物で保存されており、この系が普遍的なものであると予想されたが、エンドヌクレアーゼ MutH については、大腸菌および、ごく数種のバクテリア以外では見つかっていない。近年、*mutS* パラログの中で *mutS2* として分類される機能未知遺伝子の存在が知られるようになり、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 においてもゲノム解析の結果、*mutH* は存在しなかったものの、*ttmutS*、*ttmutL* に加えて *ttmutS2* が存在することが明らかになった。そこで、この遺伝子産物について分子機能解析を行った。

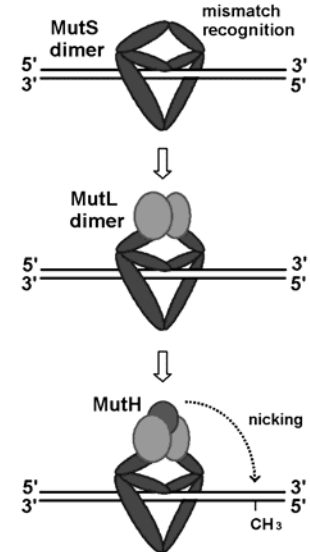


図 1: 大腸菌 MutH/L/S system

ttMutS2 は *ttMutS* のミスマッチ認識ドメインを欠き、代わりに C 末端領域に良く保存された機能未知の配列を持つ(図 2)。まず、ゲルろ過法により溶液中での会合状態を調べたところ、*ttMutS2* は MutS と同じくダイマー形成能を持つことが示唆された。MutS はダイマーで DNA に結合し、ATPase 活性を発現させるが、*ttMutS2* も二本鎖 DNA によって活性化される ATPase 活性を示した。また、ゲルシフトアッセイにより、*ttMutS2* が二本鎖 DNA に結合することを確認した。これらの結果から、*ttMutS2* が MutS と同じようなダイマー構造を形成して DNA に結合すると予想される。DNA 結合の際、*ttMutS2* は MutS と異なり、ミスマッチに対する特異性は示さなかったが、これは *ttMutS2* が MutS のミスマッチ認識領域を欠く事とも一致する。さらに、*ttMutS2* は、MutS には無い二本鎖オリゴ DNA 切断活性を持つことが分かった。この活性は、*ttMutS2* の C 末端に存在する機能未知の領域 Small MutS-Related Domain に由来すると考えられる。また、*ttMutS2* がオリゴ DNA だけでなくプラスミド DNA を切断したことから、この活性にはニッキングエンドヌクレアーゼ活性が含まれると思われる。興味深いことに、この活性は *ttMutL* および *ttMutS* の影響を受けた。低濃度の *ttMutS2* は単独ではヌクレアーゼ活性を示さないが、そのような濃度においても *ttMutS* あるいは *ttMutL* によって活性が促進された。*ttMutS2* による DNA の切断には目立った基質特異性は見られなかったが、ADP および *ttMutS* の存在下では、*ttMutS2* のランダムなヌクレアーゼ活性が抑制されていることが分かった。さらに、ゲルろ過法により、*ttMutS2* と *ttMutS* の相互作用が示唆され、両者が相同性の高いダイメリゼーションドメインを持つことを考慮すると、ヘテロダイマーの形成が予想される。

MutS パラログである MutS2 がエンドヌクレアーゼ活性を示し、その活性が MutS あるいは MutL によって活性化されたことから、MutS2 が MutS、MutL とともに何らかの DNA 修復系に関与することが予想される。

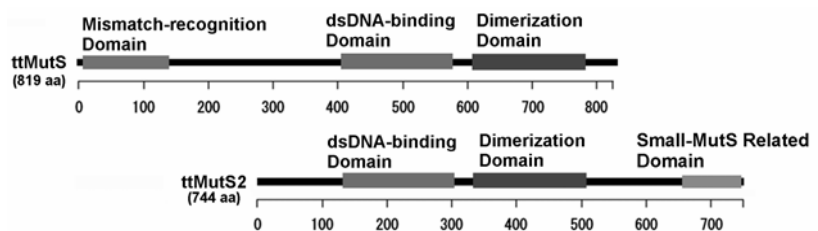


図 2: *ttMutS2* と *ttMutS* のアミノ酸配列の比較