

Title	Structure and Function of a Nucleotide Excision Repair Enzyme, UvrB
Author(s)	中川, 紀子
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3183904">https://doi.org/10.11501/3183904</a>
DOI	10.11501/3183904
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	中川紀子
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第15986号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Structure and Function of a Nucleotide Excision Repair Enzyme, UvrB (ヌクレオチド除去修復系 UvrB 蛋白質の構造機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 倉光 成紀  (副査) 教授 升方 久夫 教授 福山 恵一

### 論文内容の要旨

#### 【序論】

細胞内の DNA は、様々な要因によって傷害を受ける。ヌクレオチド除去修復系は、DNA 修復系の中で最も広い範囲の DNA 傷害を修復することができ、原核生物では、6つの酵素、UvrA、UvrB、UvrC、UvrD、DNA polymerase I、DNA ligase が関与している。その中でも、UvrB は、傷害認識から修復合成に至るほとんど全ての反応過程に関与し、修復反応において中心的な役割を果たしている。UvrB の構造と機能の関係を明らかにするために、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来の UvrB を用いて X 線結晶構造解析とドメインの機能解析を行った。

#### 【結果と考察】

**立体構造**：UvrB の立体構造を白金、ウラン、水銀の重原子誘導体を用いた多重同型置換法により決定し、1.9 Å 分解能で R 値 23.4% まで精密化した。その結果、UvrB は 4 つのドメインを持つことが分かった。このうちヘリケースモチーフ I～VI を持つ 2 つのドメイン (1A、2A ドメイン) は、これまでに立体構造が決定されている他のヘリケースの構造と似ていたが、残りの 2 つは全く異なっていた。結晶構造解析では、C 末端 82 残基の構造を決定することはできなかったが、ドメイン構造解析の結果からこの領域は  $\alpha$  ヘリックスを含む 1 つのドメイン (C2 ドメイン) を形成していることが示唆された。これらのことから、UvrB 全体では合計 5 つのドメインが存在すると考えられる。

**ドメインの機能**：立体構造解析から、UvrB のトリプシン分解産物はドメインのいくつかを欠くフラグメントであることが分かった。そこで、これらのフラグメントの活性測定の結果をもとに、構造解析によって明らかとなった各ドメインについてその機能を解析したところ：ATPase 活性には Walker A-type のヌクレオチド結合モチーフを含む 1A ドメインだけでなく、2A ドメインも必要であり、単鎖 DNA との結合には、ヘリケースモチーフ IV～VI を含む 2A ドメインが必須であることが分かった。ヘリケース DNA 複合体の構造解析から、2A ドメインは単鎖 DNA と相互作用することが示されており、UvrB でも同様に 2A ドメインが単鎖 DNA と相互作用すると考えられる。アミノ酸配列の比較から、UvrB の  $\beta$  ドメインは TRCF の 86～172 番目の領域と相同である。UvrB と TRCF は共に UvrA と相互作用し、 $\beta$  ドメインを含む UvrB の限定分解産物は UvrA と相互作用できることから、 $\beta$  ドメインは UvrA 結合ドメインであると考えられる。

**UvrB 複合体モデル**：UvrB でよく保存されている残基の立体構造上での分布を調べたところ、ヘリケースモチーフを含む 1A、2A ドメイン間の溝だけでなく、1A、2A ドメインの上部と  $\alpha$  ドメインの側面にも保存されている残基

が集中していることが分かった。これらの分布と既知のヘリケース DNA 複合体の構造をもとに、UvrB-DNA 複合体のモデルを構築した。このモデルで単鎖 DNA 相互作用している部位には、チロシン残基やヒスチジン残基が保存されており、DNA 塩基との stacking 相互作用が単鎖 DNA 結合に重要な役割を果たしていると考えられる。ヌクレオチド除去修復では、大きさや形の異なる様々な傷害が修復されるが、UvrB は正常な stacking 相互作用が形成されるかされないかによって、傷害の有無を認識しているのかもしれない。

#### 論文審査の結果の要旨

DNA 修復系の中でもっとも広い範囲の DNA 障害を修復するのはヌクレオチド除去修復系である。そのヌクレオチド除去修復系の中で、中心的役割を果たす UvrB の立体構造を X 線結晶解析で決定し、その結果を基にして、各ドメインの機能を明らかにした。よって、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。