

Title	The three-dimensional structure of an oxidative-DNA repair enzyme, MutM, from Extreme Thermophile
Author(s)	菅原, 光明
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3169141
DOI	10.11501/3169141
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	菅原光明
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 15180 号
学位授与年月日	平成12年3月24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	The three-dimensional structure of an oxidative-DNA repair enzyme, MutM, from Extreme Thermophile. (高度好熱菌の酸素ラジカル傷害塩基除去修復酵素 (MutM) の立体構造解析)
論文審査委員	(主査) 教授 倉光 成紀 (副査) 教授 福山 恵一 教授 升方 久夫

論文内容の要旨

酸素呼吸の代謝の過程で生じる酸素ラジカル種は、DNA に様々な傷害をひき起こす。特に、グアニンの酸化によって生じる 8-オキシグアニン (GO) は量的にも多く、シトシン (C) とアデニン (A) とともに塩基対を形成できるので、C : G → A : T への突然変異を誘発し、細胞死や癌の原因となる。MutM は GO : C 塩基対から GO を除去し、G : C → T : A への変異を防ぐ DNA 塩基除去修復酵素である。

この MutM 蛋白質の酵素反応機構を解明するために、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB 8 由来の MutM 蛋白質の X 線結晶構造解析を行った。まず、大腸菌内で大量発現させ、1 L の培養で 5 mg の MutM を精製する系を確立した。精製された高度好熱菌 MutM 蛋白質は、分子量約 3 万の単量体であり、約 80°C まで安定であった。MutM の結晶は薄い板状結晶が重なった状態で得られた。この結晶を砕いて単結晶部分をデータ収集に使ったため、良質な結晶を多く必要とする重原子同型置換法での解析は困難であった。しかし、MutM 分子中に含まれる亜鉛原子を利用した多波長異常分散法と、Spring-8 の強力な X 線源により、ただ 1 つの結晶から、解析に必要なデータが収集し、1.9 Å 分解能までのデータを用いて構造の精密化を行った。

MutM 分子は 2 つのドメインからなり、他の塩基除去修復酵素にはない新規のフォールドであることがわかった。ドメイン間には 2 本鎖 DNA が入ることのできる大きな溝があり、MutM の触媒反応に重要な N 末端のプロリン残基は、溝の底に位置していた。MutM ホモログ間で保存されていたアミノ酸残基はこのプロリンの周りに位置し、分子表面の静電ポテンシャルも正に帯電していた。また、MutM は、既に DNA 結合が示唆されていた Zinc フィンガーモチーフの他に、多くの塩基除去修復酵素にみられるヘリックス・ヘアピン・ヘリックス (HhH) モチーフの類似構造のヘリックス・2 ターン・ヘリックス (H2TH) モチーフを持ち、これらも DNA の溝に位置していた。このことは、傷害 DNA がこの溝に結合して作用することを示している。

MutM と傷害 DNA の作用を予測するために、複合体モデルを作成し、分子動力学計算を行った。得られたモデルから、MutM の溝にある保存された残基が DNA の傷害塩基対を被うように作用し、触媒反応に重要な働きをすることが予想された。特に Zinc フィンガーモチーフと H2TH モチーフの 2 つの DNA 結合モチーフは、他の塩基除去修復酵素と同様の機能を果たしていると考えられた。また、得られたモデルから MutM の基質特異性も説明できた。

MutM は他の塩基除去修復酵素と異なり、DNA 鎖の 3' 側と 5' 側の両方を切断することが知られているが、それらに対応する 2 つの触媒基の存在が示された。3' 側のみを切断する他の酵素には触媒基が 1 つしかなく、MutM に

において2つの触媒基が関与するモデルが支持された。これらの結果をもとにして、反応過程のモデルを提唱した。

論文審査の結果の要旨

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 の酸素ラジカル修飾塩基を除去する酵素 (MutM) の X線結晶解析を行い、その立体構造を明らかにした。その結果、MutM の反応機構が明らかになるとともに、種々の塩基除去修復酵素の反応特異性をも、説明することができた。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。