



Title	The three-dimensional structure of an oxidative-DNA repair enzyme, MutM, from Extreme Thermophile
Author(s)	菅原, 光明
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3169141
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

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-オキソグアニン(GO)は量的にも多く、シトシン(C)ともアデニン(A)とも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、1Lの培養で5mg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、1.9Å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帶電していた。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

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* HB 8 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。