

高度好熱菌由来 O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase の機能解析

**Functional analysis of O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase
from *Thermus thermophilus* HB8**

森田理日斗¹, 中川紀子^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}, 増井良治^{1,2}

Rihito Morita¹, Noriko Nakagawa^{1,2}, Seiki Kuramitsu^{1,2}, Ryoji Masui^{1,2}

(¹大阪大学理学研究科生物科学専攻, ²理研播磨)

(¹Dpt.Biol.Sci., Grad.Sch.Sci., Osaka Univ., ²Riken Harima Inst.,)

e-mail: lihito@bio.sci.osaka-u.ac.jp

DNA のアルキル化障害は methyl methanesulfonate などのようなメチル化剤だけでなく細胞代謝の中間体として生じる *S*-adenosylmethionine などによっても引き起こされる。DNA のアルキル化は4つのいずれの塩基でも起こり、それにより塩基誤対合や二重鎖 DNA の切断、架橋が起きる。アルキル化剤によって起こる主な障害には O^6 -methylguanine (O^6 -meG) が含まれ、それは DNA にとって毒性な障害であり変異原性をもつ。 O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase (Ogt) はこのような生物学的影響を妨げる。Ogt は化学量論的に自身の活性部位 (PCHRV) のシステインへメチル基を転移させることでDNA 中の O^6 -meG 障害を修復する。この直接修復酵素はほとんど全ての生物種で保存されており、活性部位もまたよく保存されている。

Thermus thermophilus HB8 (TtHB8) も *ogt* と同定された遺伝子を持っている。この遺伝子の産物、TtHB8 Ogt は *E. coli* の Agt と 34%、*H. sapiens* の MGMT と 37% それぞれ同一である。しかし、TtHB8 Ogt では推定上の活性部位のシステイン残基がアラニン残基に置換されている。このように活性部位のシステイン残基が欠損した *ogt* と似た遺伝子を持つ生物種が存在することが知られている。アルキル化された DNA 存在下での TtHB8 Ogt の機能を明らかにするため、我々は TtHB8 Ogt を MBP と融合させて大量発現させ、精製した。ゲルシフトアッセイの結果は TtHB8 Ogt が O^6 -meG を含む DNA にもメチル化されていない DNA (normal DNA) にも結合できることを示した。さらに競合阻害実験により、 O^6 -meG を含む DNA へは normal DNA に比べ 300 倍高い結合親和性を持つことが示された。にもかかわらず、TtHB8 Ogt による合成オリゴヌクレオチドからメチル基を転移させる活性は見られなかった。そのため TtHB8 Ogt は別の修復経路に O^6 -meG を伝達するためのダメージセンサーとして働いていることが示唆される。

