

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 ヌクレオチド除去修復系の機能解析

Nucleotide Excision Repair system of *Thermus thermophilus* HB8

○齋藤郁美¹, 中川紀子^{1,2}, 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)

○Ikumi SAITO¹, Noriko NAKAGAWA^{1,2}, Ryoji MASUI^{1,2}, and Seiki KURAMITSU^{1,2}

(¹Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Univ. ²RIKEN / Harima Inst.)

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

遺伝情報の担い手である DNA は内外の因子による様々な種類の傷害を受けやすい。そこで生体内にはこれらを認識・除去する修復機構が存在する。中でもヌクレオチド除去修復系はあらゆる生物種間で保存され、チミンダイマーや酸化傷害など幅広い傷害を認識、除去する系として重要である。原核生物においては UvrA/B/C 蛋白質がこの系の中心的役割を果たしており、UvrAB による傷害認識に続いて、UvrC が DNA 上の傷害の両側を切断する。ヌクレオチド除去修復系の基本的な反応機構のモデルが構築され、個々の蛋白質の機能も明らかにされつつあるが、多様な基質の認識機構や、UvrC によるヌクレオチド鎖の切断機構など、多くの解明の余地を残している。本研究では高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 をモデル生物として、傷害認識や DNA 鎖切断の反応機構の解析や DNA 傷害に対する生体内での修復系の発現制御の解析を目指している。

これまでに *T. thermophilus* HB8 由来の UvrA と UvrB を精製し、様々な基質 DNA に対する結合親和性を解析した。またヌクレアーゼである *T. thermophilus* HB8 由来 UvrC (*T.th* UvrC)の量産化、精製法を確立し、その分子機能解析を行った。動的光散乱とゲル濾過による解析から、*T.th* UvrC は溶液中で 5 または 6 量体で存在していることがわかった。さらに UvrA/C の限定分解を行い、それらの安定な構造ドメインを同定した。近年、*Bacillus caldotemax* および *Thermotoga maritima* 由来の UvrC の N 末端ドメインの立体構造が決定された。その構造では二価の金属イオン 1 個と水分子 5 個がクラスターを形成しており、one-metal mechanism による DNA 上の傷害の 3'側切断のモデルが提唱された。これらの UvrC N 末端ドメインは二価の金属イオンとして Mg または Mn を含んでいたが、ICP 発光分光分析の結果、*T.th* UvrC には Fe が含まれていた。現在、限定分解で同定した構造ドメインごとに発現プラスミドを構築し、その発現・精製を行っている。今後これらのドメインの含有金属イオンの構造的、および機能的役割について更に詳しく調べる予定である。

大腸菌においては、*uvrA*, *B* の発現は SOS 応答の制御下にある。しかし SOS 遺伝子の数や LexA 結合配列は生物種によって異なっており、*T.th uvrA/B* の上流配列は大腸菌型の SOS box を持たないことから、大腸菌とは異なる制御機構が存在すると考えられる。そこで DNA チップを利用して、UV 照射に対する遺伝子発現の変化を網羅的に調べた。