

Thermus thermophilus HB8 タンパク質の機能発見研究:
 塩基除去修復系における Endonuclease IV の機能解析
**Functional identification of protein from *T. thermophilus* HB8:
 Functional analysis of Endonuclease IV in base excision repair**

富山理恵¹, 中川紀子^{1,2}, 増井良治^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}

Rie tomiyama¹, Noriko Nakagawa^{1,2}, Ryouji Masui^{1,2}, Seiki Kuramitsu^{1,2}

(¹阪大・院理・生物科学, ²理研・播磨研)

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

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

DNA において最も一般的な傷害は、AP サイトである。AP サイトは、脱プリンや脱ピリミジン化、もしくは塩基除去修復系 (BER) の中間体として生成する。この AP サイトを除去するのが AP エンドヌクレアーゼである。BER では、DNA グリコシラーゼが修飾塩基から AP サイトを形成し、AP エンドヌクレアーゼが AP サイトを切断し、DNA ポリメラーゼが正しい塩基を取り込み、DNA リガーゼがニックを埋めている。本研究ではこれらの酵素群の中でも特に AP エンドヌクレアーゼに注目し、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 の Endonuclease IV (EndoIV) の速度論的解析を行うとともに、ウラシルを対象とした BER を *in vitro* で再構成し、その性質を明らかにすることを目的としている。

まず、EndoIV と 2 種類の Uracil-DNA glycosylase (UDG) の相互作用を解析した。UDG 単独では initial burst が観察されたが、EndoIV を加えると、initial burst が解消され、UDG の活性が上昇していた。速度論的解析により、EndoIV は UDG の塩基除去活性にはほとんど影響しないが、UDG の AP サイトからの解離を促進する作用があることを示した。また、EndoIV はフリーの AP サイトよりも UDG と AP サイトとの複合体に対して強い活性を示した。次に、BER 再構成系実験では、UDG, EndoIV, DNA polymerase I, DNA ligase の 4 種類の酵素のみで、反応が進行することが示された (図 1)。今後は、再構成系において速度論的解析を進め、さらに他の DNA 修復酵素との相互作用を調べる予定である。

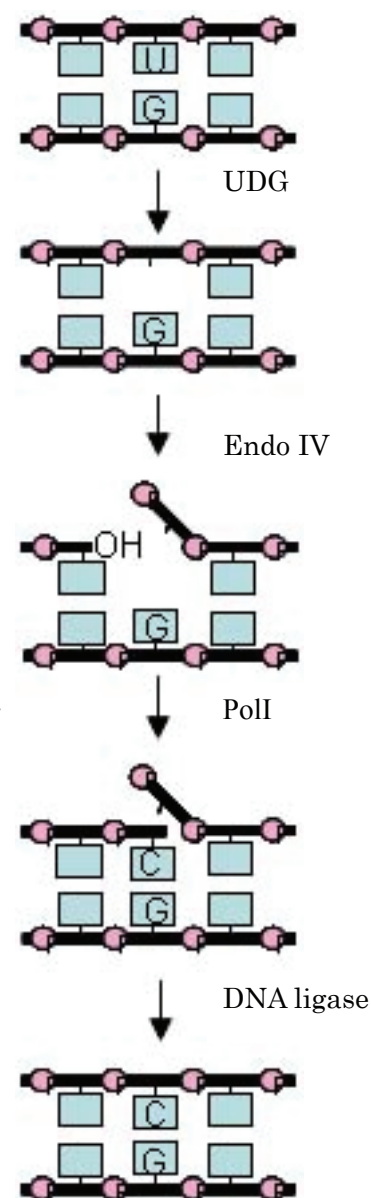


図 1 .BER 経路