

O^6 -メチル化DNA修復酵素の結晶構造解析

黒田美和、○角田大、中村和郎 昭和大学・薬学部

グアニンは6位の酸素のメチル化により、シトシン残基だけでなく、チミン残基とも塩基対を形成することが可能となる。つまり、本来G≡Cである塩基対が、Gのアルキル化により O^6 -メチルG=T塩基対となり、さらに複製により、A=Tという塩基対変異を誘導する。この種の変異は突然変異や発ガンの原因の一つになると考えられている。 O^6 -メチル化DNA修復酵素(O-6-methylguanine-DNA methyltransferase; MGMT)はDNA中の O^6 -メチルグアニンを探し出し、メチル基を酵素のシステイン残基へ転移させ、 O^6 -メチルグアニンをグアニン残基に修復する。MGMTは今までに複数の生物種(*Pyrococcus kodakaraensis*, *Escherichia coli*, Human)で立体構造が明らかになっているが、今回はその反応メカニズムを追うべく好熱性古細菌*Sulfolobus tokodai*を用いて結晶構造解析を行った。

セレノメチオニン誘導体のMGMT結晶を用いてSAD法にて位相を決定し、構造解析を行った。Native MGMT結晶を O^6 -メチルグアニンを含む溶液中に時間(15秒、10分、60分、一晚)を変えて浸し、回折データを収集し分子置換法により構造決定を行った。両者の構造を比較すると、酵素反応前の活性部位のシステイン残基を反応に有利なチオールアニオンにさせるためのGlu-His-Water-Cysの水素結合ネットワークが、酵素反応後には、S-メチルシステインの生成により崩壊している状態が観察された。また、S-メチルシステインのメチル基は3方向のコンフォメーションをとっていた。

活性部位のシステインをセリンに置換した変異体MGMTを作製し、構造解析した。野生型MGMTでみられた水素結合ネットワークに類似したGlu-His-Water-Serが観察された。しかし、変異体MGMTに O^6 -メチルグアニンをソーキング時間した結晶構造では、メチル基の転移は生じていなかった。

O^6 -メチルグアニンとの複合体構造からはいずれも、プリン部分の2位のアミノ基と3位窒素原子の認識をTyr残基、6位の酸素原子を水分子を介して主鎖のカルボニル基が行っていることが明らかになった。