

酸化損傷ヌクレオチド加水分解酵素における 基質認識機構および加水分解反応機構の構造学的基盤

○有森貴夫¹, 紙谷浩之², 中村照也¹, 池水信二¹, 石橋徹³,
原島秀吉², 関口睦夫³, 山縣ゆり子¹

¹熊本大院・薬, ²北大院・薬, ³福岡歯科大・学術フロンティア

DNA の構成塩基の中でもグアニンは最も酸化的損傷を受けやすく, その 8 位が酸化されて生じた 8-オキソグアニン (8-oxoG) は, シトシンだけでなくアデニンとも塩基対を形成するため, 突然変異の要因となる. 8-oxoG による突然変異を防ぐには, 細胞質中の 8-oxoG ヌクレオチド (8-oxo-dGTP, 8-oxo-dGDP) を除去することが極めて重要である. 大腸菌では MutT がこの両者を一リン酸へと加水分解するのに対し, ヒトにおいては MTH1 が 8-oxo-dGTP を, NUDT5 が 8-oxo-dGDP をそれぞれ一リン酸へと加水分解することで, 突然変異の抑制に寄与している. また, NUDT5 は, ADP-ribose や ADP-mannose といった ADP-sugar に対しても, 親和性が低いながらも加水分解活性を示し, 幅広い基質特異性を有している. 我々は, この NUDT5 の基質認識機構および加水分解反応機構を解明することを目的とし, NUDT5/8-oxo-dGDP/Mn²⁺ 複合体および NUDT5/8-oxo-dGMP 複合体の結晶構造を, それぞれ 2.1 Å, 2.3 Å の分解能で決定した. これらの構造は反応前後の状態を反映しているものと考えられる. NUDT5 の基質複合体構造と, これまで加水分解反応機構に関する構造学的知見が多く得られている MutT の基質複合体構造を, 活性中心である Nudix モチーフを基準に重ねて比較したところ, 基質の塩基部位の認識機構が全く異なっているにも関わらず, 切断を受けるリン酸基の位置, および活性に重要な金属の配位の様式が非常に良く一致していることが明らかになった. このことから, これまで不明であった NUDT5 の加水分解反応機構に関して, 重要な知見が得られたといえる.

また, 最近新たに, NUDT5 が他の酸化損傷ヌクレオチドに対しても加水分解活性を示すことが発見されたため, 新規の基質として複合体での結晶構造解析を行った. 得られた構造を, NUDT5/8-oxo-dGDP/Mn²⁺ 複合体や, 過去に報告された NUDT5/ADP-ribose 複合体の構造と比較した結果, 塩基部位を回転あるいは反転させるなど, 巧妙な機構により幅広い基質特異性を獲得していることが明らかになった.