

突然変異抑制酵素NUDT5 の幅広い基質特異性発現機構

有森, 貴夫

日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門分子構造・機能研究グループ

山縣, ゆり子

熊本大学大学院生命科学研究部機能分子構造解析学分野

<https://doi.org/10.15017/20446>

出版情報：福岡醫學雑誌. 102 (11), pp.303-312, 2011-11-25. 福岡医学会

バージョン：

権利関係：

総 説

突然変異抑制酵素 NUDT5 の幅広い基質特異性発現機構

¹⁾日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門 分子構造・機能研究グループ
²⁾熊本大学 大学院生命科学研究部 機能分子構造解析学分野

有 森 貴 夫¹⁾, 山 縣 ゆり子²⁾

はじめに

DNA は生物にとって最も重要な遺伝情報を担う物質でありながら、塩基の酸化、メチル化、チミンダイマーの形成、鎖の切断など、様々な損傷を受けることが知られている。そのため、生物はこれらの損傷に対する多様な防御機構を備えている。DNA の塩基部位の酸化は代表的な損傷の一つであり、特に国内においては酸化損傷およびその修復機構に関する研究が精力的に進められている。DNA を構成する4種類の塩基（アデニン、グアニン、シトシン、チミン）の中でも、グアニンは最も酸化損傷を受けやすく、その中でも最も生成され易い8-オキソグアニン (8-oxo-7,8,-dihydroguanine, 8-oxoG) は、シトシンだけでなくアデニンともミス塩基対を形成してしまうため、DNA のトランスバージョン変異を引き起こす要因となる (図1)^{1)~3)}。その結果、8-oxoG はアルツハイマー病⁴⁾、心疾患⁵⁾、ガンなど⁶⁾、多くの疾患へ関与することも報告されている。

ヒト NUDT5 は元来、ADP リボースなどの ADP-sugar と呼ばれる一連の修飾ヌクレオチドの加水分解酵素として同定されたが⁷⁾⁸⁾、その後の研究で酸化損傷に対する防御機構としても働くことが発見された酵素である。後に詳述するが、DNA の酸化に対する防御機構としては、DNA 鎖上の酸化塩基の除去だけでなく、DNA 前駆体であるヌクレオチドレベルでの防御機構も重要であり、NUDT5 は、ヒトの細胞内の酸化損傷ヌクレオチドの除去において中心的な役割を担っている酵素の一つと考えられている。また、多くの酸化損傷ヌクレオチドおよび ADP-sugar を加水分解することから、幅広く細胞内の浄化に寄与している酵素ともいえる。最近われわれは、NUDT5 と酸化ヌクレオチドとの複合体の立体構造解析の結果などから、NUDT5 が酵素学的にも大変興味深い非常にユニークな機構により様々な基質を認識し、加水分解していることを明らかにした⁹⁾。本稿では、その立体構造解析の結果を中心に、NUDT5 による基質認識機構および加水分解反応機構を概説したい。

1. 8-oxoG による突然変異に対する防御機構

8-oxoG による突然変異は、主に2つの機構によって抑制されている。1つ目は DNA 鎖上の 8-oxoG に対する修復機構である。ヒトにおいては、DNA 鎖上でシトシンと塩基対を形成している 8-oxoG を除去する酵素として OGG1¹⁰⁾、8-oxoG に対してミス塩基対を形成したアデニン塩基を除去する酵素として MUTYH¹¹⁾ という2種類の DNA グリコシラーゼが存在する (図1)。しかし、DNA の酸化損傷は、DNA に対して直接的に起こるだけでなく、DNA 前駆体であるヌクレオチドが酸化されることでも起こる。dGTP の酸化体である 8-oxo-dGTP が、DNA 複製の際に DNA ポリメラーゼの基質となり DNA 中に取り込まれることは、原核生物および真核生物において示されている³⁾¹²⁾。そこで、2つ目の機構として 8-oxoG を含むヌクレオチドを分解する酵素が存在する。初めに発見されたのは大腸菌 MutT であり、ヌ

Takao ARIMORI¹⁾ and Yuriko YAMAGATA²⁾

¹⁾Molecular Structural Biology Group, Quantum Beam Science Directorate, Japan Atomic Energy Agency

²⁾Department of Structural Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University
Mechanistic Insight into Hydrolysis of Oxidized Nucleotide Diphosphates by Human NUDT5

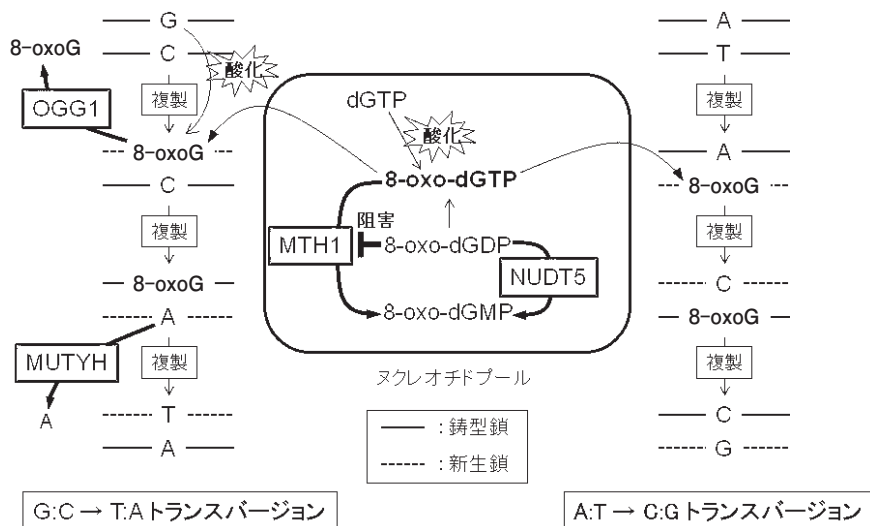


図1 8-oxoGによる突然変異誘発機構とその防御機構

クレオチドプール中の8-oxo-dGTPをDNAの合成に関与しない8-oxo-dGMP（一リン酸体）へと加水分解する活性を有していることが示された¹³⁾。このMutT機能の発見は、8-oxoGによる突然変異の抑制に、DNA鎖上だけでなく、ヌクレオチドレベルで防御機構が存在することを初めて明らかにした研究として注目された。その後、MutTは8-oxo-dGDP（二リン酸体）やRNA前駆体（リボヌクレオチド）である8-oxo-GTP、8-oxo-GDPに対しても加水分解活性を示すことが明らかになり、MutTが8-oxoGによる突然変異や転写エラーを強力に抑制していることが示された¹⁴⁾¹⁵⁾。また、MutTのヒトホモログであるMTH1に対する研究も精力的に行われてきた¹⁶⁾。MTH1はMutTと同様に8-oxo-dGTPを8-oxo-dGMPへと加水分解するだけでなく、dATPの酸化体、2-oxo-dATP、8-oxo-dATPに対しても活性を示し、それぞれ対応するヌクレオシドーリン酸へと加水分解する^{17)~19)}。個体レベルでのMTH1の研究も行われ、MTH1欠損マウスでは、核ゲノムへの8-oxoGの蓄積、トランスバージョン変異の発生頻度の上昇、それに伴う肝腫瘍の発生頻度の上昇がみられた^{20)~22)}。しかし、MTH1の酵素活性は、二リン酸体である8-oxo-dGDPにより阻害されてしまうことや¹⁷⁾²³⁾、8-oxo-dGDP自身が細胞内で容易にリン酸化され8-oxo-dGTPとなってしまうことなどから、ヒトにおいては8-oxo-dGDPを分解する酵素が他に存在することが予想された。このような背景のもと、2003年にIshibashiらは、NUdT5が8-oxo-dGDP分解活性を有していることを発見した²⁴⁾。

2. NUdT5の機能

NUdT5は、MutTやMTH1と同じくNudixファミリーと呼ばれる酵素群に属している。Nudixファミリー酵素は、23残基からなるMutT signature（Nudixモチーフ）と呼ばれる保存された活性モチーフを有しており、2価の金属イオン存在下で様々な修飾ヌクレオチドを加水分解する。しかし、NUdT5はNudixファミリーの中でもADPリボースピロリン酸分解酵素（ADPRase）サブファミリーに分類され、1999年に同定された際にも、ADPリボースやADPマンノースといったADP-sugarに対する加水分解活性のみが報告された⁷⁾。ADPリボースもまた、細胞内で濃度が上昇してしまうと、タンパク質に対して非特異的なADPリボシル化を引き起こし、細胞障害を生じさせると予想されている。したがって、NUdT5は細胞内のADPリボース濃度を調節する上で重要な酵素であると考えられている。

しかし、2003年にNUdT5が8-oxo-dGDPに対しても加水分解活性を示すことが発見されると、酸化損傷ヌクレオチド分解酵素としてのNUdT5の機能が次々に報告された。2005年には、同じくIshibashiらにより、RNA前駆体である8-oxo-GDPに対しても一リン酸体へと加水分解することが発見され、NUdT5が転写エラーに対する防御機構としても働くことが示された²⁵⁾。さらに、2009年にはKamiyaら

によって、8-oxo-dADP, 2-oxo-dADP など、様々な酸化損傷ヌクレオシド二リン酸に対しても、同様に加水分解活性を示すことが報告され、NUDT5が実に幅広く酸化損傷ヌクレオチドの除去に寄与していることが明らかになった²⁶⁾。特に、NUDT5の8-oxo-dADPに対する酵素活性は、8-oxo-dGDPに対するものと同等であった。NUDT5の機能については細胞レベルでの研究も行われている。大腸菌においては、8-oxo-(d)GTP および 8-oxo-(d)GDP を一リン酸体へと加水分解する MutT を欠損させると、複製時および転写時の変異発生率が野生株と比べてそれぞれ約 1,000 倍および約 28 倍上昇するが、MutT 欠損株にヒトの NUDT5 を発現させると、その変異発生率は野生株並みまでの回復が見られた²⁴⁾²⁵⁾。さらにヒト 293T 細胞においては、NUDT5 をノックダウンさせると 8-oxo-dGTP の添加による変異誘発率が顕著に上昇することが報告された²⁷⁾。これらのことは、8-oxo-dGTP と 8-oxo-dGDP が細胞内で互いに容易に変換されることを示しており、NUDT5 によって 8-oxo-dGDP が分解されることが突然変異の抑制に重要であることを示している。

3. NUDT5/ADP リボース複合体の結晶構造

上述のように、NUDT5 は ADP-sugar と酸化損傷ヌクレオチドに大別される複数の修飾ヌクレオチドに対して酵素活性を示す。これらはいずれもヌクレオシド二リン酸を骨格として有しており、共通して存在する 2 つのリン酸基の間の結合が NUDT5 による触媒作用によって切断される (図 2)。NUDT5 によるこれらの基質の認識機構を詳細に明らかにするには、原子レベルでの立体構造解析が可能な X 線結晶構造解析が有効である。

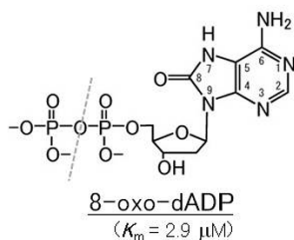
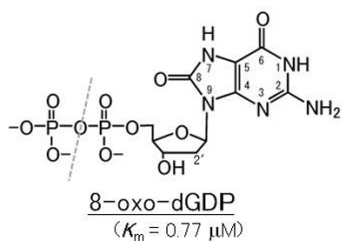
NUDT5 の結晶構造は、2006 年および 2008 年に Zha らによって、アポ体、ADP リボースが結合した複合体 (以下、ADP リボース複合体)、AMP が結合した複合体、ADP リボースの基質アナログである AMPCPR と活性に必要な 2 価の金属イオン (Mg^{2+}) が結合した複合体 (以下、AMPCPR 複合体) の 4 種が報告された²⁸⁾²⁹⁾。NUDT5 の全体構造は、3 つの β ストランドからなる β シートで構成された N 末端ドメインと、活性モチーフである MutT signature (Gly97-Tyr119) を含む Nudix ドメインに分けられ、N 末端ドメインが交差した二量体を形成している (図 3 A)。Nudix ドメインは 4 つの α ヘリックスと 7 つの β ストランドからなる Nudix ファミリーに典型的な α - β - α サンドイッチ構造である。ADP リボース複合体の構造からは、ADP リボースが二量体界面に結合し、二量体を形成している両分子によって認識されること、すなわち二量体が機能構造であることが明らかになった。Zha らによって報告されたこれらの立体構造は、NUDT5 による ADP リボースの認識および加水分解反応機構を理解する上で重要な知見を与えた。しかしながら、これらは ADPRase としての NUDT5 に特化したものであり、NUDT5 による酸化損傷ヌクレオチドの認識機構や NUDT5 が幅広い基質を認識できるメカニズムは依然不明なままであった。

4. NUDT5/8-oxo-dGDP 複合体の結晶構造

NUDT5 による幅広い基質特異性発現機構を解明するには、NUDT5/酸化損傷ヌクレオチド複合体の構造情報が必要不可欠である。そこでわれわれは、NUDT5 と 8-oxo-dGDP との複合体の結晶構造解析を試みた。高純度に精製した組み換え NUDT5 と 8-oxo-dGDP を混合し、さらに触媒反応に必要な 2 価の金属イオンである Mn^{2+} を添加し結晶化を行った。得られた結晶を用いて X 線回折実験を実施し、NUDT5/8-oxo-dGDP/ Mn^{2+} 複合体 (以下、8-oxo-dGDP 複合体) の結晶構造を 2.1 Å 分解能で決定した⁹⁾。

8-oxo-dGDP は、ADP リボースと同じく二量体界面に結合していた。図 3 B に NUDT5 による 8-oxo-dGDP の詳細な認識機構を示す。塩基部位である 8-oxoG は、異なるサブユニット上に存在する 2 つのトリプトファン残基 (Trp28, Trp46) に挟まれるように結合し、スタッキング相互作用を形成していた。それに加え、塩基の 1 位、2 位、3 位、6 位において、Glu47 の主鎖および Arg51 の側鎖との水素結合の形成が観測され、塩基部位が NUDT5 により厳密に認識されていることが分かった。また、8-oxoG の特徴である 8 位の O 原子および 7 位の N 原子に付加している H 原子との直接的な相互作用は見られな

酸化損傷ヌクレオチド



ADP-sugar

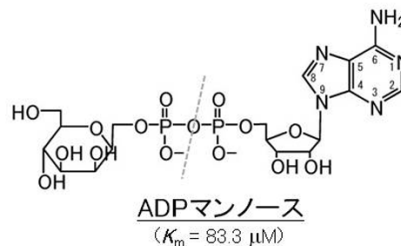
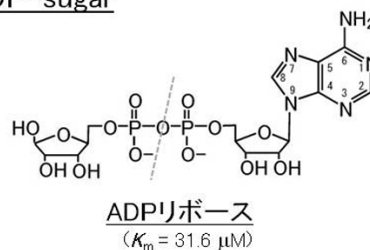


図2 NUDT5の主な基質の化学構造
NUDT5の基質は酸化損傷ヌクレオチドとADP-sugarに大別される。
NUDT5による触媒反応により、点線で示した部位が切断される。

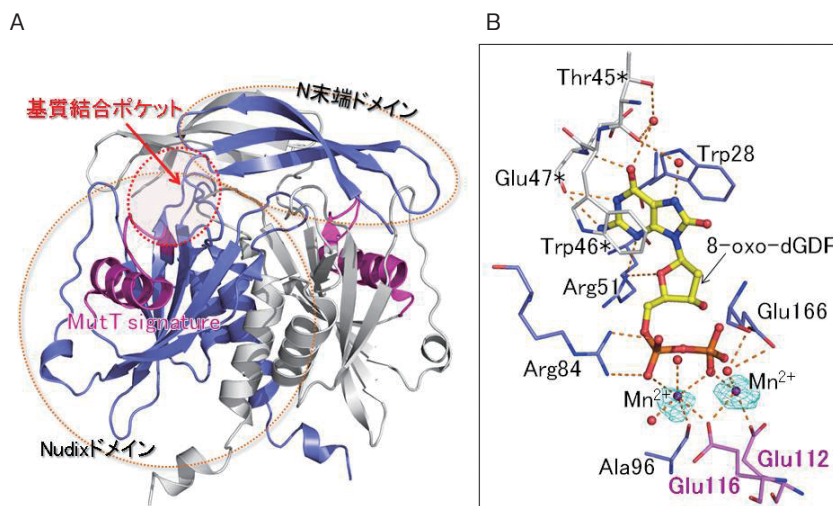


図3 NUDT5の結晶構造
A, NUDT5 (Apo 体) の全体構造. 青色で示した分子と灰色で示した分子 (サブユニット) によってホモ二量体を形成している. NUDT5分子はN末端ドメインとNudixドメインに分けられ, Nudixドメイン中に活性モチーフであるMutT signatureがある (マゼンタ). 基質結合ポケットは二量体界面に存在する.
B, 8-oxo-dGDP 複合体構造から明らかになったNUDT5による8-oxo-dGDP認識機構. 基質認識に関わるアミノ酸残基は図3Aと同じ色のスティックモデル (隣接するサブユニットのアミノ酸残基には*を付けている), 8-oxo-dGDPは黄色のスティックモデル, 水素結合は橙色の点線, 基質結合部位に観測された Mn^{2+} 由来のAnomalous difference Fourier map (3.5σ) はシアンで示している.

かった。このことは、NUDT5が通常のdGDPに対しても、約10分の1程度の親和性ではあるが、酵素活性を示すことと一致している ($K_m^{8\text{-oxo-dGDP}} = 0.77 \mu\text{M}$, $K_m^{\text{dGDP}} = 7.1 \mu\text{M}$)²⁴⁾。一方、リボース部位においてはArg51とリボースのO原子間の水素結合のみがみられた。リボースの2'位の炭素近傍にはアミノ酸が存在せず、2'位にヒドロキシル基が付加した8-oxo-GDP (リボヌクレオチド)も同様の様式で結合が可能であると考えられる。負に荷電したピロリン酸部位は、塩基性アミノ酸であるArg84との水素結合に加え、結晶化の際に添加したMn²⁺イオンが、酸性アミノ酸であるGlu112, Glu116との間に2つ配位することにより固定されていた。Glu112, Glu116は共にMutT signature上に存在する活性に極めて重要なアミノ酸残基であり、これらをグルタミンに置換した変異体ではADPリボースの加水分解において、野生型と比べてそれぞれ6,300倍, 2,000倍もの活性の低下が報告されている²⁹⁾。したがって、これらのMn²⁺イオンは、グルタミン酸残基と基質のピロリン酸基の間に配位することで基質の固定化に寄与しているだけでなく、触媒反応においても重要な働きをしていると考えられる。8-oxo-dGDPの全体の結合様式を見ると、塩基部位とピロリン酸部位が逆方向を向いた様式で結合していたため、われわれはこれをZ型コンホメーションと呼ぶことにした。

5. 8-oxo-dGDPとADPリボースの結合様式の比較

次に、8-oxo-dGDP複合体とADPリボース複合体の構造を重ね合わせ、基質認識機構の比較を行ったところ、両複合体ではNUDT5自身の構造はよく似ていた(390残基のCa原子間の平均二乗偏差は0.8Å)。しかしながら、それぞれの基質の結合様式には驚くべき違いがあることがわかった。まず、化学構造が異なる塩基部位においては、2つのトリプトファン残基に挟まれた位置で、8-oxo-dGDPとADPリボースでは表裏が反転していた(図4 A)。また、塩基の結合様式の違いに伴い、それに繋がっているリボースの位置が全く異なっており、さらにはピロリン酸部位が逆向きに結合していた。その結果、ピロリン酸部位の α 位と β 位のリン酸基の空間的な位置は、ADPリボースと8-oxo-dGDPで完全に逆転していた(図4 B)。ADPリボースのこのようなNUDT5結合型構造は、塩基部位とピロリン酸部位が同じ方向を向いているため、Zhaらは馬蹄型コンホメーションと呼んでいる。前述のように、基質のピロリン酸部位はNUDT5により触媒作用を受ける部位であるため、このような結合様式の違いは、それぞれの基質の加水分解反応機構を考える上で重要な意味を持つ。

6. NUDT5の加水分解反応機構の仮説

ADPリボースの加水分解反応機構については、基質アナログが結合したAMPCPR複合体を基に提唱されている。それによると、まず、8-oxo-dGDP複合体構造にも観測された2つの金属イオンに加え、さらにもう1つの金属イオンがピロリン酸部位に配位する。次に、これらの金属イオンとそれに配位した3つのグルタミン酸残基(Glu112, Glu116, Glu166)によって水分子が活性化され(求核性をもち)、この水分子によりADPリボースの α 位のP原子が攻撃されることで基質の2つのリン酸基の間の結合が切断されると考えられている(図4 C)²⁹⁾。

ここで、先ほどの8-oxo-dGDPとADPリボースのピロリン酸部位の結合様式の違いを考慮すると、ADPリボースの α 位のP原子の位置には、8-oxo-dGDPの β 位のP原子があることから、これらの基質はヌクレオシド二リン酸を骨格とした類似した化学構造を有しているにもかかわらず、求核攻撃を受ける原子が異なることが考えられる。そこで、実際に溶液中の反応でこのような違いがあるのかどうかを明確にするため、同位体ラベル化法という手法を用いて加水分解反応時の基質の求核攻撃部位を特定した。

7. 同位体ラベル化法による求核攻撃部位の特定

NUDT5によりADPリボースが分解されるとAMPとリボース5'-リン酸が、また8-oxo-dGDPが分解されると8-oxo-dGMPとリン酸が産生される。同位体ラベル化法では、これらの加水分解反応を¹⁸Oラベル化水の存在下で進行させる。すると、¹⁸Oラベル化水が攻撃するP原子の位置によって、どちらの反

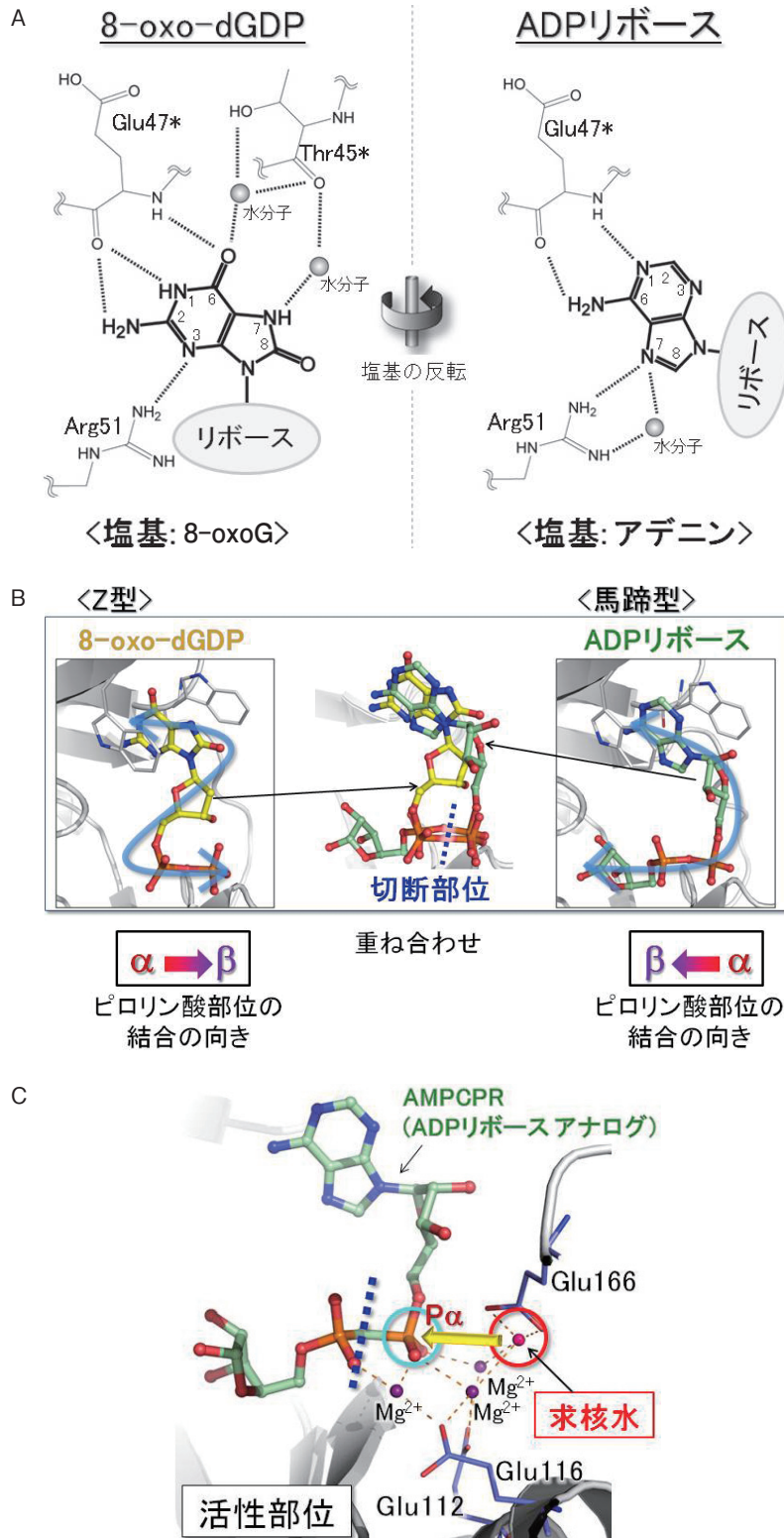


図4 8-oxo-dGDP と ADP リボースの結合様式の比較
 A, 基質の塩基部位の認識機構の模式図. 水素結合を点線で示している.
 B, 構造の重ね合わせによる基質結合様式の比較. 8-oxo-dGDP は Z 型コンホメーション, ADP リボースは馬蹄型コンホメーションで結合しており, ピロリン酸部位の結合が完全に逆向きになっている.
 C, AMPCPR 複合体構造から提唱された加水分解反応機構. Glu112, Glu116, Glu166 と金属イオンによって水分子が活性化され, ADP リボースの α 位の P 原子を求核攻撃すると考えられている.

応生成物に ^{18}O が付加するかが異なってくる。具体的には、基質の α 位のP原子が求核攻撃を受ける場合には、それぞれAMP、8-oxo-dGMPに、一方、 β 位のP原子が求核攻撃を受ける場合には、それぞれリボース5'-リン酸、リン酸に ^{18}O が付加する。 ^{18}O が付加した反応生成物は、 ^{31}P NMR スペクトルにおいてやや高磁場側にピークがシフトするため検出することができる。

まず、ADP リボースの加水分解反応溶液について、求核攻撃部位の特定を行った。 ^{18}O ラベル化水存在下でNDUT5によるADP リボースの加水分解反応を進行させた後、その反応溶液の ^{31}P NMR スペクトルを測定したところ、AMPのP原子由来のピークのやや高磁場側にピークが観測された(図5 A)。このことから、NUDT5によるADP リボースの加水分解反応では、過去に提唱された通り α 位のP原子が求核攻撃を受けることを特定した。次に、8-oxo-dGDPの加水分解反応溶液について同様の実験を行ったところ、今度はリン酸のP原子由来のピークのやや高磁場側にピークが観測された(図5 B)。この結果から、8-oxo-dGDPの加水分解反応においては、 β 位のP原子が求核攻撃を受けることが明らかになった。すなわち、ADP リボースと8-oxo-dGDPでは求核攻撃を受けるP原子の化学構造上の位置が異なることを証明した(図5 C)⁹⁾。

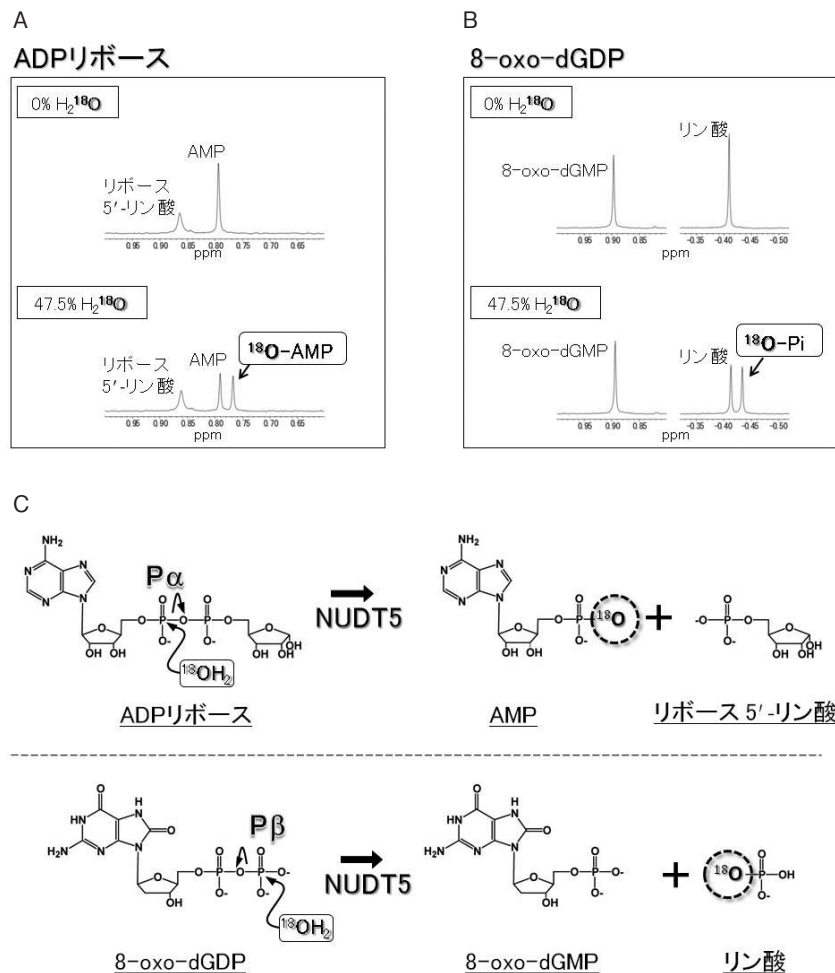


図5 同位体ラベル化法による求核攻撃部位の特定

A, ADP リボース加水分解反応溶液の ^{31}P NMR スペクトル。 ^{18}O ラベル化水非存在下(上)と存在下(下)で反応させた溶液を用いて測定。

B, 8-oxo-dGDP加水分解反応溶液の ^{31}P NMR スペクトル。 ^{18}O ラベル化水非存在下(上)と存在下(下)で反応させた溶液を用いて測定。

C, ^{18}O ラベル化水存在下でのNUDT5によるADP リボースおよび8-oxo-dGDP加水分解反応機構の概略。ADP リボースは α 位のP原子が求核攻撃を受けるのに対し、8-oxo-dGDPは β 位のリン原子が求核攻撃を受けることを証明した。

8. 基質結合様式を決定する要素

NUDT5の基質結合様式には8-oxo-dGDPに見られたようなZ型コンホメーションと、ADPリボースに見られたような馬蹄型コンホメーションという、少なくとも2種類のコンホメーションが存在することがわかり、結合様式によって加水分解反応時に求核攻撃を受けるP原子が異なることを明らかにした。では、このような基質のコンホメーションの違いは、何で決まるのだろうか。それは塩基部位の配向であると考えられる。基質の塩基部位は、2つのトリプトファン残基に挟まれていることから、結合する際の自由度は、水平方向の回転と表裏の反転のみに限られる。その中で、Glu47やArg51などの周囲のアミノ酸残基との相互作用を形成できるような配向が、塩基の化学構造によって決定される。その結果、各基質複合体構造に観測されたように、各基質の塩基部位は配向が異なってもNUDT5との間に多くの相互作用が形成され、極めて安定に固定されている。8-oxo-dGDPは、NUDT5結合時に塩基とリボースの間のグリコシド結合が*high-anti*配座をとっているが、本来は*syn*配座が安定であるため、Z型コンホメーションをとることはエネルギー的に不利になると言える。しかしながら、NUDT5はこのように塩基部位を強力的に固定することができるため、比較的不安定なZ型コンホメーションでも基質を結合し、加水分解することが可能になったと考えられる。

興味深いことに、塩基部位を挟んでいる2つのトリプトファン残基(Trp28, Trp46)は、8-oxo-dGDPの分解活性のない原核生物由来のADPRaseには保存されていないが、動物や昆虫に加え、複数の下等真核生物由来ADPRaseホモログ(ほとんどは機能未知)で保存されている。これらの真核生物の遺伝子には、MTH1のホモログも保持されていることから、MTH1ホモログとNUDT5ホモログの2種類の酵素による酸化損傷ヌクレオチド除去機構は、進化の早い段階において確立されていたと予想される。

おわりに

一般的に、類似した化学構造を持つ基質から類似した生成物が産生されるような酵素反応においては、基質の認識機構および触媒反応機構も類似していると考えられている。NUDT5による触媒反応もすべて、基質のヌクレオシド二リン酸骨格中のピロリン酸部位が切断され、ヌクレオシド一リン酸が産生されるという類似性がある。それにもかかわらず、実際にはNUDT5は類似した化学構造を持つ基質に対して、化学的性質が異なる原子を求核攻撃するというユニークな触媒反応機構を有していることが明らかになった。われわれが知る限りではこのような特徴を有する酵素は過去に報告例がなく、これまでの酵素学の常識を覆す結果であったと言える。

タンパク質の立体構造解析は、薬剤設計においても有用なツールとして広く取り入れられており(Structure-Based Drug Design)、多くの酵素がそのターゲットとして注目されている。しかし、酵素学は実に奥が深く、限られた構造情報や既成概念にとらわれていると思わぬ落とし穴にはまる可能性がある。より効率的な薬の開発のためにも、個々の酵素について、構造情報をはじめとするより多くの研究成果を蓄積していくことが重要と言えるだろう。

参 考 文 献

- 1) Wood M, Dizdaroglu M, Gajewski E and Essigmann J : Mechanistic studies of ionizing radiation and oxidative mutagenesis : genetic effects of a single 8-hydroxyguanine (7-hydro-8-oxoguanine) residue inserted at a unique site in a viral genome. *Biochemistry* 29 : 7024-7032, 1990.
- 2) Moriya M, Ou C, Bodepudi V, Johnson F, Takeshita M and Grollman AP : Site-specific mutagenesis using a gapped duplex vector : a study of translesion synthesis past 8-oxodeoxyguanosine in *E. coli*. *Mutat. Res.* 254 : 281-288, 1991.
- 3) Shibutani S, Takeshita M and Grollman A : Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG. *Nature* 349 : 431-434, 1991.
- 4) Markesbery W and Carney J : Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 9 : 133-146, 1999.

- 5) Ohtsubo T, Ohya Y, Nakamura Y, Kansui Y, Furuichi M, Matsumura K, Fujii K, Iida M and Nakabeppu Y : Accumulation of 8-oxo-deoxyguanosine in cardiovascular tissues with the development of hypertension. *DNA Repair (Amst)* 6 : 760-769, 2007.
- 6) Okamoto K, Toyokuni S, Uchida K, Ogawa O, Takenawa J, Kakehi Y, Kinoshita H, Hattori-Nakakuki Y, Hiai H and Yoshida O : Formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and 4-hydroxy-2-nonenal-modified proteins in human renal-cell carcinoma. *Int. J. Cancer* 58 : 825-829, 1994.
- 7) Gasmi L, Cartwright J and McLennan A : Cloning, expression and characterization of YSA1H, a human adenosine 5'-diphosphosugar pyrophosphatase possessing a MutT motif. *Biochem. J.* 344 Pt 2 : 331-337, 1999.
- 8] Yang H, Slupska MM, Wei YF, Tai JH, Luther WM, Xia YR, Shih DM, Chiang JH, Baikalov C, Fitz-Gibbon S, Phan IT, Conrad A and Miller JH : Cloning and characterization of a new member of the Nudix hydrolases from human and mouse. *J. Biol. Chem.* 275 : 8844-8853, 2000.
- 9] Arimori T, Tamaoki H, Nakamura T, Kamiya H, Ikemizu S, Takagi Y, Ishibashi T, Harashima H, Sekiguchi M and Yamagata Y : Diverse substrate recognition and hydrolysis mechanisms of human NUDT5. *Nucleic Acids Res.* 39 : 8972-8983, 2011.
- 10) Arai K, Morishita K, Shinmura K, Kohno T, Kim SR, Nohmi T, Taniwaki M, Ohwada S and Yokota J : Cloning of a human homolog of the yeast *OGG1* gene that is involved in the repair of oxidative DNA damage. *Oncogene* 14 : 2857-2861, 1997.
- 11) Slupska MM, Baikalov C, Luther WM, Chiang JH, Wei YF and Miller JH : Cloning and sequencing a human homolog (hMYH) of the *Escherichia coli mutY* gene whose function is required for the repair of oxidative DNA damage. *J. Bacteriol.* 178 : 3885-3892, 1996.
- 12) Satou K, Hori M, Kawai K, Kasai H, Harashima H and Kamiya H : Involvement of specialized DNA polymerases in mutagenesis by 8-hydroxy-dGTP in human cells. *DNA Repair (Amst)* 8 : 637-642, 2009.
- 13] Maki H and Sekiguchi M : MutT protein specifically hydrolyses a potent mutagenic substrate for DNA synthesis. *Nature* 355 : 273-275, 1992.
- 14) Ito R, Hayakawa H, Sekiguchi M and Ishibashi T : Multiple enzyme activities of *Escherichia coli* MutT protein for sanitization of DNA and RNA precursor pools. *Biochemistry* 44 : 6670-6674, 2005.
- 15) Taddei F, Hayakawa H, Bouton M, Cirinesi A, Matic I, Sekiguchi M and Radman M : Counteraction by MutT protein of transcriptional errors caused by oxidative damage. *Science* 278 : 128-130, 1997.
- 16) Nakabeppu Y, Oka S, Sheng Z, Tsuchimoto D and Sakumi K : Programmed cell death triggered by nucleotide pool damage and its prevention by MutT homolog-1 (MTH1) with oxidized purine nucleoside triphosphatase. *Mutat Res.* 703 : 51-58, 2010.
- 17) Fujikawa K, Kamiya H, Yakushiji H, Fujii Y, Nakabeppu Y and Kasai H : The oxidized forms of dATP are substrates for the human MutT homologue, the hMTH1 protein. *J. Biol. Chem.* 274 : 18201-18205, 1999.
- 18) Fujikawa K, Kamiya H, Yakushiji H, Nakabeppu Y and Kasai H : Human MTH1 protein hydrolyzes the oxidized ribonucleotide, 2-hydroxy-ATP. *Nucleic Acids Res.* 29 : 449-454, 2001.
- 19) Mo J, Maki H and Sekiguchi M : Hydrolytic elimination of a mutagenic nucleotide, 8-oxodGTP, by human 18-kilodalton protein : sanitization of nucleotide pool. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89 : 11021-11025, 1992.
- 20) Sakumi K, Tominaga Y, Furuichi M, Xu P, Tsuzuki T, Sekiguchi M and Nakabeppu Y : *Ogg1* knockout-associated lung tumorigenesis and its suppression by *Mth1* gene disruption. *Cancer Res.* 63 : 902-905, 2003.
- 21) Egashira A, Yamauchi K, Yoshiyama K, Kawate H, Katsuki M, Sekiguchi M, Sugimachi K, Maki H and Tsuzuki T : Mutational specificity of mice defective in the *MTH1* and/or the *MSH2* genes. *DNA Repair (Amst)* 1 : 881-893, 2002.
- 22) Tsuzuki T, Egashira A, Igarashi H, Iwakuma T, Nakatsuru Y, Tominaga Y, Kawate H, Nakao K, Nakamura K, Ide F, Kura S, Nakabeppu Y, Katsuki M, Ishikawa T and Sekiguchi M : Spontaneous tumorigenesis in mice defective in the *MTH1* gene encoding 8-oxo-dGTPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98 : 11456-11461, 2001.
- 23) Bialkowski K and Kasprzak K : A novel assay of 8-oxo-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate pyrophosphohydrolase (8-oxo-dGTPase) activity in cultured cells and its use for evaluation of cadmium(II) inhibition of this activity. *Nucleic Acids Res.* 26 : 3194-3201, 1998.
- 24] Ishibashi T, Hayakawa H and Sekiguchi M : A novel mechanism for preventing mutations caused by oxidation of guanine nucleotides. *EMBO Rep.* 4 : 479-483, 2003.
- 25] Ishibashi T, Hayakawa H, Ito R, Miyazawa M, Yamagata Y and Sekiguchi M : Mammalian enzymes for preventing transcriptional errors caused by oxidative damage. *Nucleic Acids Res.* 33 : 3779-3784, 2005.

- 26] Kamiya H, Hori M, Arimori T, Sekiguchi M, Yamagata Y and Harashima H : NUDT5 hydrolyzes oxidized deoxyribonucleoside diphosphates with broad substrate specificity. DNA Repair (Amst) 8 : 1250-1254, 2009.
- 27) Hori M, Satou K, Harashima H and Kamiya H : Suppression of mutagenesis by 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate (7, 8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate) by human MTH1, MTH2, and NUDT5. Free Radic. Biol. Med. 48 : 1197-1201, 2010.
- 28] Zha M, Zhong C, Peng Y, Hu H and Ding J : Crystal structures of human NUDT5 reveal insights into the structural basis of the substrate specificity. J. Mol. Biol. 364 : 1021-1033, 2006.
- 29] Zha M, Guo Q, Zhang Y, Yu B, Ou Y, Zhong C and Ding J : Molecular mechanism of ADP-ribose hydrolysis by human NUDT5 from structural and kinetic studies. J. Mol. Biol. 379 : 568-578, 2008.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です.)

プロフィール

有森 貴夫 (ありもり たかお)

日本原子力研究開発機構博士研究員 (量子ビーム応用研究部門分子構造・機能研究グループ)。薬博。

◆**略歴** : 1982年熊本県熊本市に生る。2005年熊本大学薬学部卒業。2007年同大学院薬学教育部修士課程修了。2010年同大学院薬学教育部博士課程修了。同年より現職。

◆**研究テーマと抱負** : 気管支喘息などの疾患に関わる細胞接着因子について、X線や中性子を用いた構造解析に取り組んでいる。これらのタンパク質をターゲットにした創薬に貢献したい。

◆**趣味** : 旅行、テニスなど

山縣 ゆり子 (やまがた ゆりこ)

熊本大学教授 (大学院生命科学部機能分子構造解析学分野)。薬博。

◆**略歴** : 1952年兵庫県に生る。1975年大阪大学薬学部卒業。1980年同大学院薬学研究科博士課程修了。1986年大阪大学薬学部助手。1998年大阪大学大学院薬学研究科助教授。2001年熊本大学大学院薬学研究科教授。2010年より現職。

◆**研究テーマと抱負** : 核酸や情報伝達に関わるタンパク質の構造生物学的研究。タンパク質の立体構造に基づく新しい機能発現メカニズムの解明とそれを利用した薬物設計が夢。

◆**趣味** : 演劇や音楽鑑賞