

1C-01

大腸菌DNAポリメラーゼIIIの特異な性質と*mutT*ミューテーター株における高い変異頻度との関係

山田 雅巳¹, 清水 雅富², 片渕 淳¹, ピーター・グルーズ¹,
藤井慎吾³, 碓井 之雄², Robert P. Fuchs³, 能美 健彦¹

(¹国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部,
²東京医療保健大学・医療栄養学科, ³フランス国立研究機構)

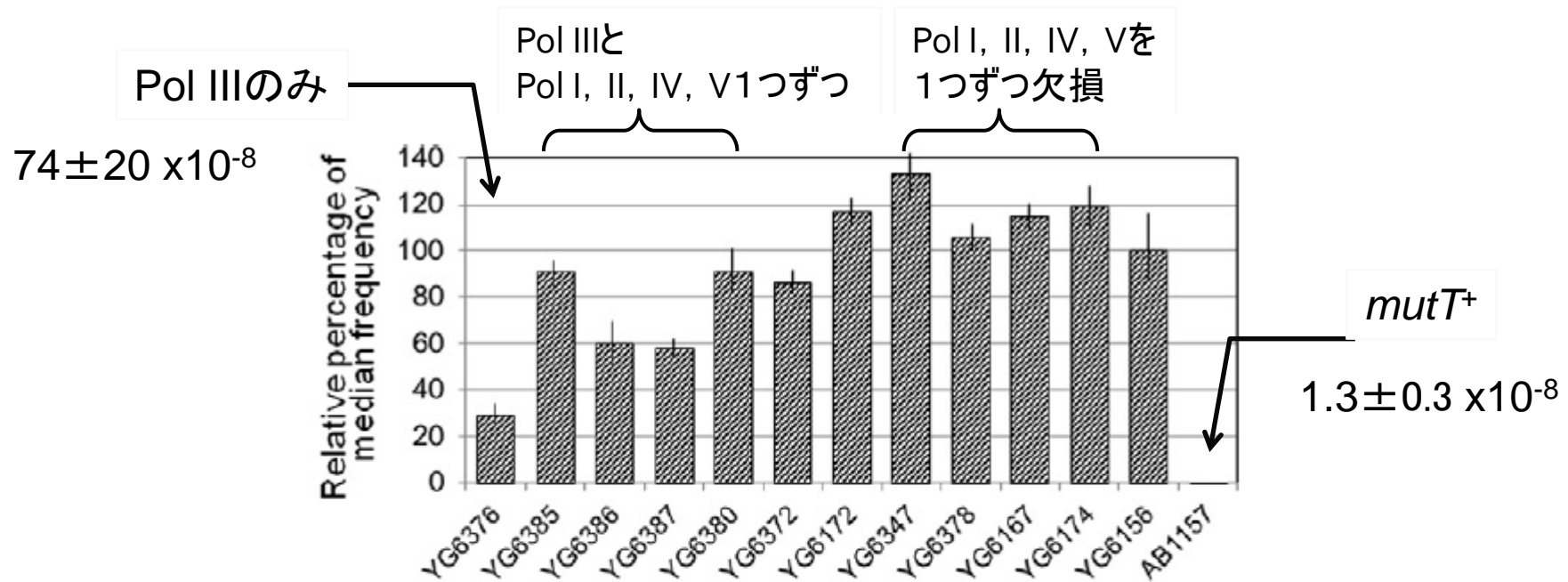
大腸菌*mutT*変異株の突然変異頻度

- 大腸菌の *mutT* 変異株は
 - 8-oxo-dGTPの分解活性を欠いており、その自然突然変異頻度は野生株の 100倍にもなることが知られる。(Yanofsky *et al.*, 1966; Maki & Sekiguchi, 1992; Fowler *et al.*, 2003).
 - A:TからC:Gへのトランスバージョンがほとんど
- 代表的な酸化ヌクレオチドである8-oxo-dGTPは、DNAに取り込まれると高い頻度でA:TからC:Gへのトランスバージョンを引き起こす。(Treffers *et al.*, 1954…)

DNAポリメラーゼのファミリー

- *A-family* *E. coli* DNA polymerase I (pol I)
Taq DNA pol I / T7 DNA polymerase
- *B-family* *E. coli* DNA polymerase II (pol II)
T4 DNA polymerase / yeast pol d, Rev3
- *C-family* *E. coli* DNA polymerase III (pol III) α subunit
(Bacterial replicative DNA polymerases)
- *D-family* DNA polymerase II from *Pyrococcus furiosus*
(DNA polymerase from Euryarchaeota)
- *X-family* DNA polymerase β (pol β)
Terminal deoxynucleotidyltransferase (TdT)
- *Y-family* DinB/UmuC/Rev1/Rad30 superfamily

Pol I, II, IV, Vの各種欠損株と*mutT*変異の組合せによる自然突然変異頻度の比較

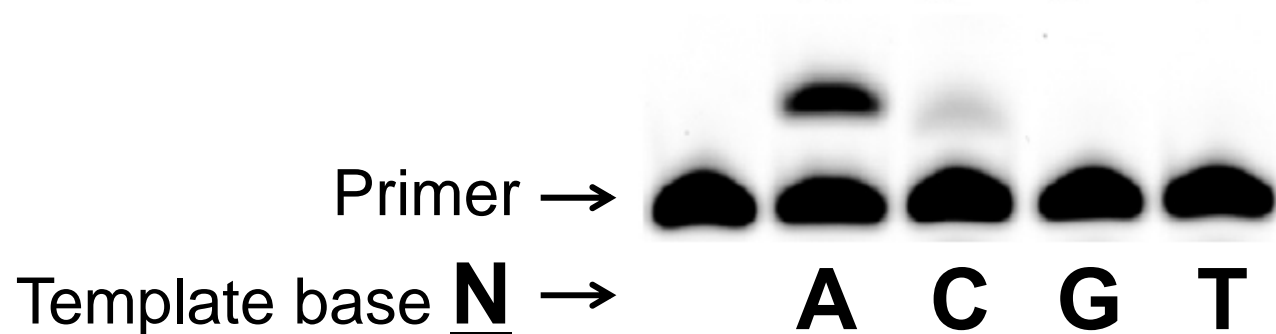
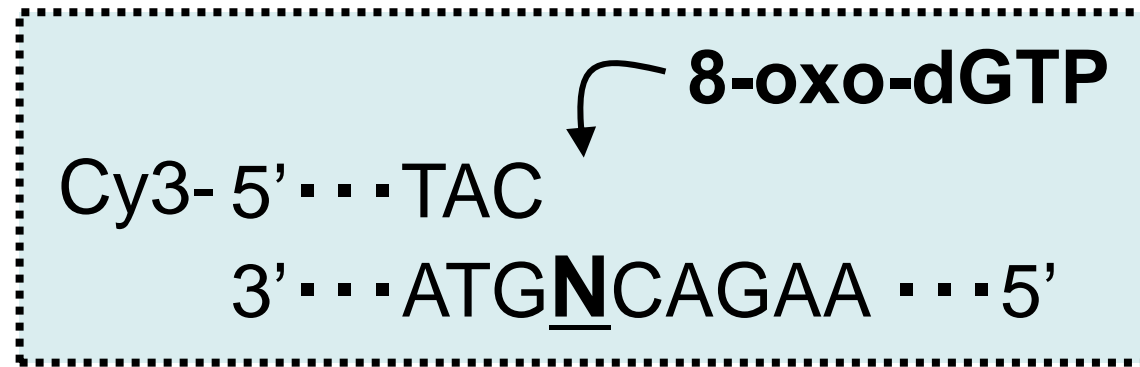


Pol I	Δ	+	Δ	Δ	Δ	Δ	+	Δ	+	+	+	+	+
Pol II	Δ	Δ	+	Δ	Δ	+	+	+	Δ	+	+	+	+
Pol IV	Δ	Δ	Δ	+	Δ	Δ	Δ	+	+	Δ	+	+	+
Pol V	Δ	Δ	Δ	Δ	+	+	Δ	+	+	+	Δ	+	+
MutT	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ	+

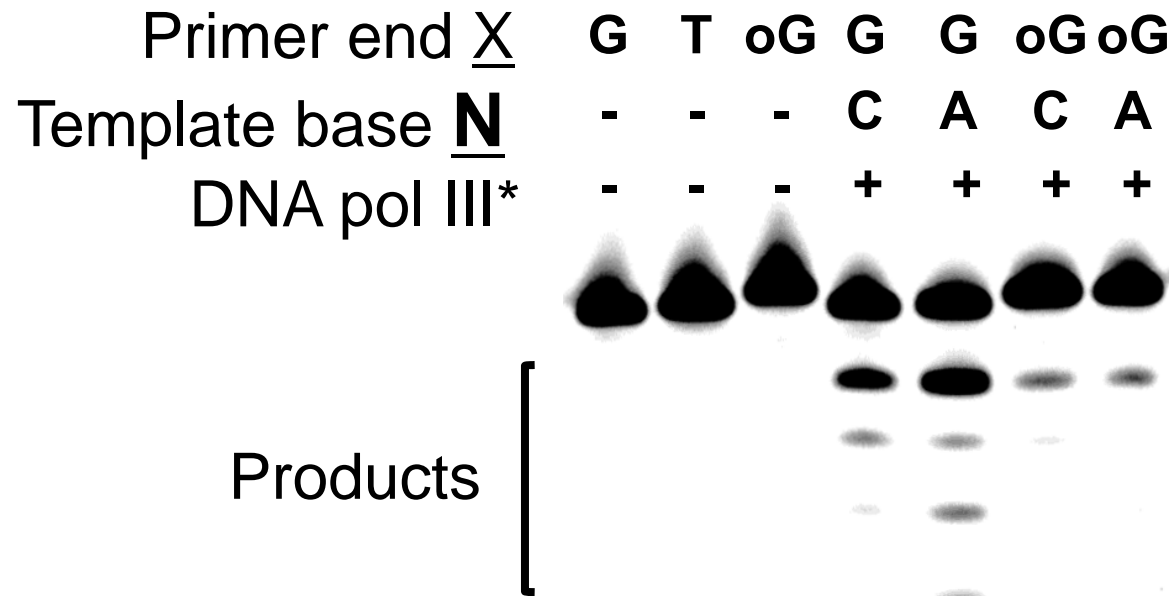
Yamada et al. Mol. Microbiol. 86, 1364-137 (2012)

日本遺伝学会第85回大会（横浜）2013.9.19

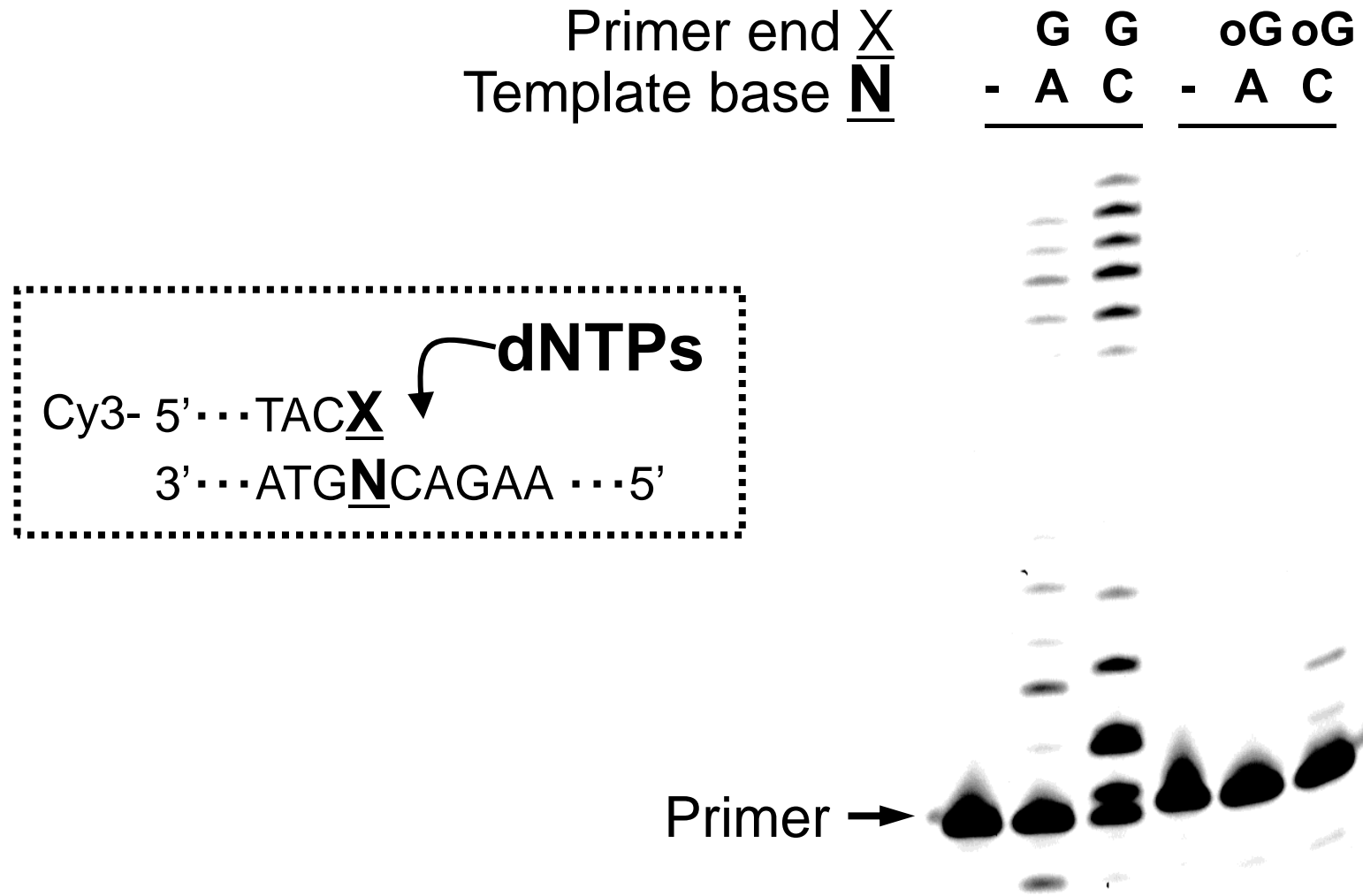
DNAポリメラーゼIII* (DNA pol III*) は, プライマー伸長反応で, 8-oxo-dGTPをほとんどAの向かいに取り込んだ



DNA pol III*の校正機能は プライマー末端の8-oxo-dGを取り除く活性が弱い

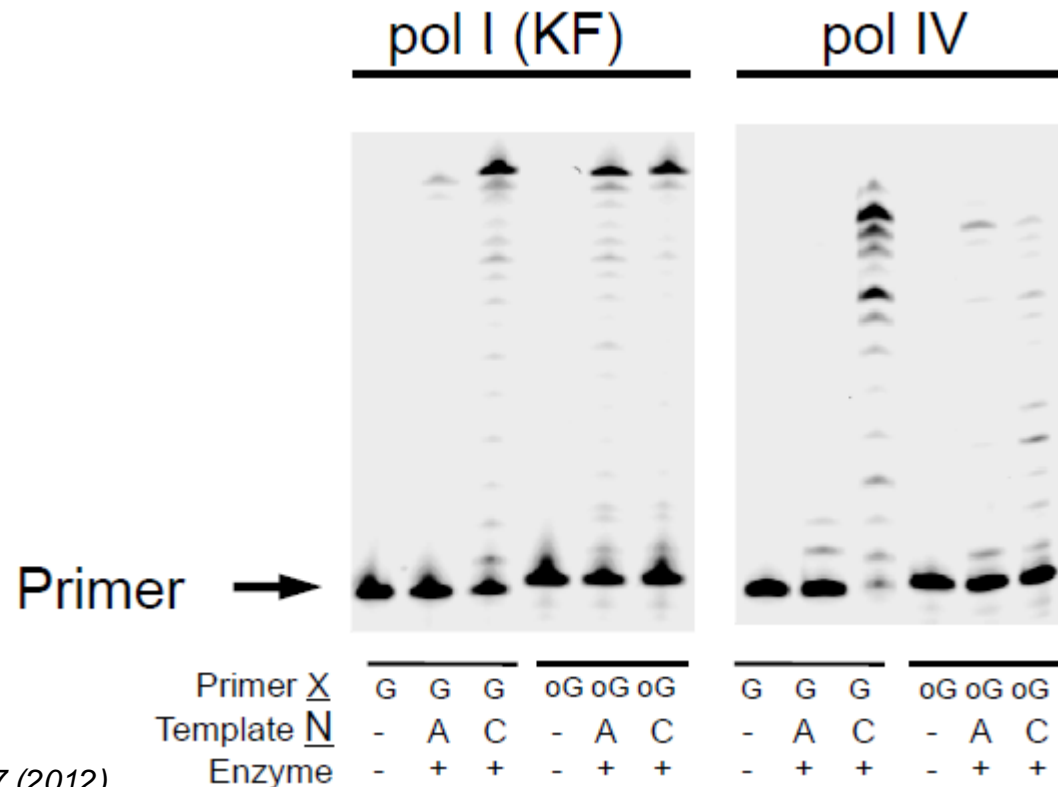


DNA pol III*は、プライマー末端にある8-oxo-dG (oG) を伸長する活性が弱い



DNA pol I, pol IVは プライマー末端の8-oxo-dGから伸長することができる

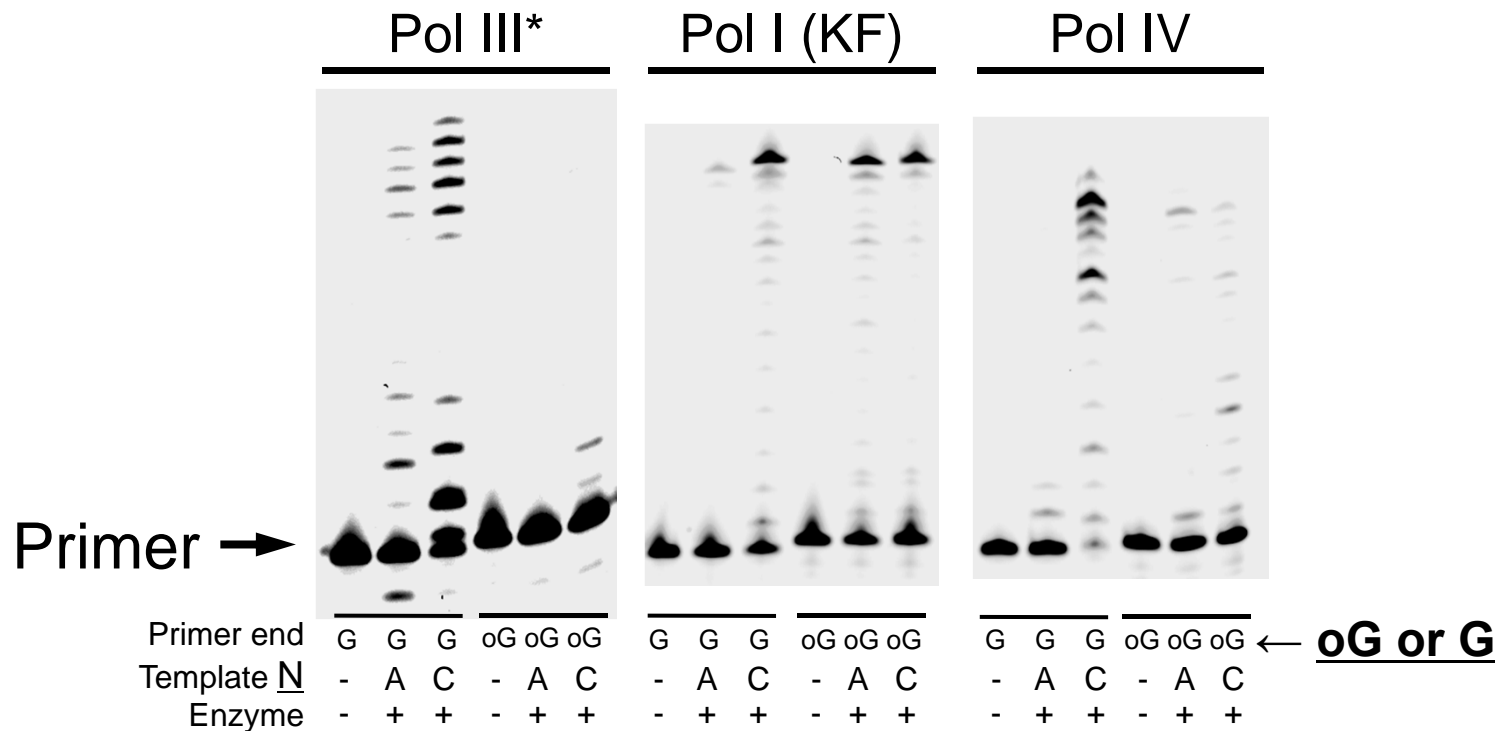
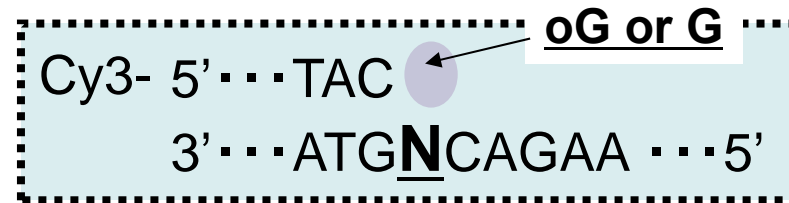
Cy3- 5'...TACX
3'...ATGNCAGAA...5'



Yamada et al. Mol. Microbiol. 86, 1364-137 (2012)

日本遺伝学会第85回大会（横浜）2013.9.19

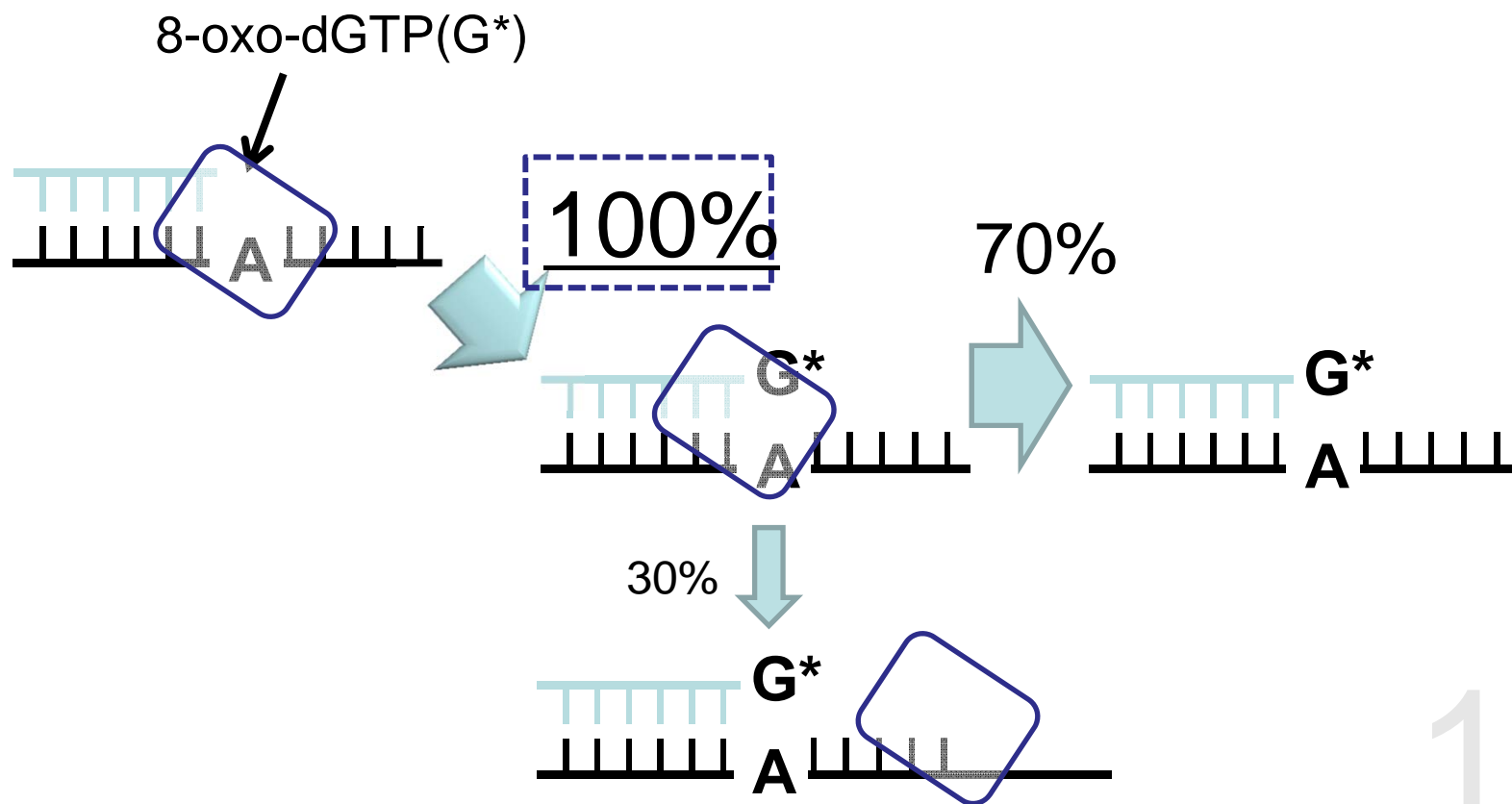
プライマー末端の8-oxo-dGから伸長する活性



8-oxo-dGTPの取り込みと伸長のモデル

Mis-incorporation of G^*
Opposite template A

Extension
Following incorporation of G^*



哺乳類の場合

MTH 1 : MutTのカウンターパートがアミノ酸のモチーフをもとに同定されている。8-oxo-dGTPase活性を持ち、大腸菌の*mutT*変異株の突然変異を顕著に抑制する。(Sakumi et al., 1993; Furuichi et al., 1994)

Mth1^{-/-} のマウスでは複数の臓器で腫瘍発生頻度が高くなる

Mth1^{-/-} のマウス細胞ではMth1^{±/±} と比較して**約2倍**の突然変異 (Egashira et al., 2002)

ま と め

大腸菌のゲノムを複製するDNAポリメラーゼIIIは・・・

- A向かいにCの向かいの20倍効率良く8-oxo-dGTPを取り込む性質を持つ。
- 取り込んだ後、末端に8-oxoGをもつプライマーを伸長する活性が弱い。これはPol I 等 が伸長していると推察される。
- 校正機能で、8-oxodG/Aの対から8-oxodGを除去する活性が弱い。

以上のことから、大腸菌ではDNAポリメラーゼIIIの持つ特殊な性質によって、8-oxo-dGTPを分解する酵素が欠損した*mutT*株でのAからCへのトランバージョンの頻度が非常に高くなっていると考えられる。