

修復機能の多様化



研究ノート

倉岡 功*

Functional Diversification of repair enzymes

Key Words : DNA, RNA, Enzyme, DNA repair, RNA editing

はじめに

生物がその生命活動を正常に営むためには生命情報が必須となります。例えば、ヒトという生物は約60兆個の細胞により形作られていますが、この細胞を増殖させ、そして細胞を制御するためには生命情報が必要です。この情報がなければ我々生物は生きていくことができないということは、生物学において一つの事実であるといっても過言ではないでしょう。この重要な生命情報は、有機化学物質であるデオキシリボ核酸、つまりDNAの中に書き込まれています。

DNAには、4つの塩基が存在します。アデニン、シトシン、グアニンそしてチミンです。この4つの塩基がいわゆる情報を司る文字に当てはまります。日本語の平仮名で言えば、「あ、い、う、え、お、...」の50音。英語のアルファベットで言えば、「A, B, C, D, E, F, G, ...」の26文字。そして生物の塩基では、アデニン、シトシン、グアニンそしてチミンの4つの有機化学物質が情報を書き込む文字となっているのです。生物はたった4つの塩基で情報を正確に維持しています。

一方、この生命情報を担うDNAは非常に重要なのですが、有機化学物質であるので、環境中の放射線、紫外線および化学物質などの外的要因、および細胞の代謝過程で発生する活性酸素などの内的要因

により、比較的容易に絶えず損傷を受けていることが知られています。これらの損傷は、DNAに起こる損傷なのでDNA損傷と呼ばれています。このDNA損傷は細胞死や突然変異を誘発し、ひいては老化・がん化等の原因になるということが広く知られています。ではなぜ損傷がさまざまな疾患にむすびつくのでしょうか？それは、損傷によって先ほどの生物に欠くことのできない生命情報が正しい時に正しい場所で正確に伝わらなくなるからです。その情報の流れに異常があると生命活動は正常には保てなくなります。

これまでの多くの研究から、ヒトを含めた全ての生物はこれらのDNA損傷を修復して生命情報を維持することのできる多様なDNA修復機構を持っていることが示されています。つまり生命情報は容易に傷がつきますが、一方で修復されているということです。物質が崩壊する方向から、維持する方向への生命の力と考えることができるかも知れません。また、ヒトにとってはDNA代謝における一つの恒常性維持機能とも考えることができるでしょう。このDNA損傷を修復する多様なDNA修復機構を明らかにすることが私たちの研究テーマの一つです。

ところが近年このDNA修復の研究から、意外な生命機能の発見にたどり着くことができました。その研究についてご紹介したいと思います¹。

オルタナティブDNA除去修復機構

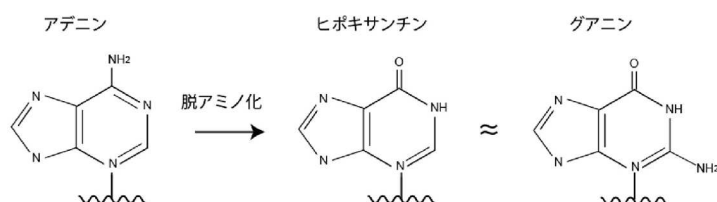
上述したようにDNAは有機物質で損傷を受けます。その基本は有機反応になります。幾つかよく知られた反応がありますが、脱アミノ化反応はその典型的なものの一つとなります。自然発生的に、その物理化学的安定性から、アミノ基が離脱します。例えばこの反応がアデニンで起こるとその生成物はDNA損傷であるヒポキサンチンとなります(図1A)。生



* Isao KURAOKA

1965年12月生
大阪大学大学院 医学研究科 (1996年)
現在、大阪大学基礎工学部 准教授
博士(医学) 分子生物学
TEL: 06-6850-6240
FAX: 06-6850-6240
E-mail: kuraoka@chem.es.osaka-u.ac.jp

A



B

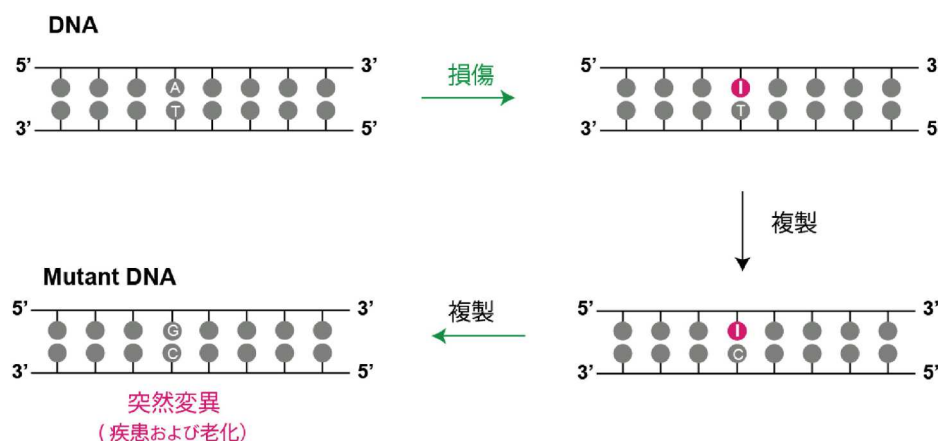


図1 (図1B: ヒポキサンチンをIで表示します。)

体内では、このヒポキサンチンは、グアニンとして認識されてしまいます。つまり、DNA 損傷であるヒポキサンチンは、突然変異を誘発するということです (図1B: アデニンをA、チミンをT、シトシンをC、グアニンをG、そしてヒポキサンチンをIで表示) ²。

突然変異を誘発するDNA 損傷は、生物には不都合なので、修復されなければなりません。その修復方法は、これまでにバクテリアにおいて詳細に解析されていました。幾つかの論文においてエンドヌクレアーゼVという酵素が関わるオルタナティブDNA 除去修復機構の存在がバクテリアの修復機構として示唆されていました。バクテリアではこの酵素が存在しないと突然変異を容易に誘発します。また、この酵素の機能を持たないネズミ (ノックアウトマウス) では突然変異による高発癌性を示すことが報告されていました³。

DNAの構造および機能は生物の中では普遍的なもので、一般的にバクテリアで存在するもしくはネズミに存在する修復機構はヒトにおいても同様なDNA 修復機構が存在すると考えられていました。

また、事実このエンドヌクレアーゼVという酵素は、ヒトからバクテリアまで非常に似通っていることがデータベース上でも明らかになっていました。そこで私たちは、ヒトにおけるこのオルタナティブDNA 除去修復機構の解明と酵素の役割を明らかにするために、ヒトのエンドヌクレアーゼVをクローニングし、その組換えタンパク質を作製、その詳細な機能を解析することにしました。

では実験しかし結果は？

そのような経緯でDNA 修復機構を解析するため、ヒトのエンドヌクレアーゼVと化学合成した損傷を有するDNA 基質とを反応させました。しかし、奇妙なことに思い描いていたDNA 切断活性すなわち修復活性を観察することができませんでした。

我々が観察できたこと、何が奇妙かという、この酵素は本来2本鎖であるDNA 基質より、1本鎖のDNA 基質により切断活性をもつことがわかりました。DNAは、生物の細胞の中には2本鎖として存在します。しかし、この酵素はその2本鎖には作用せず、生物の細胞の中では容易には存在しない

1本鎖のDNAだけを切断したのです。また、もう一つ奇妙だったことは、このヒトのエンドヌクレアーゼVが細胞核に存在していなかったことです。DNA修復酵素であればDNAが存在する細胞核に存在するはずですが、しかしその核にはこの酵素はありませんでした。細胞質と呼ばれるところに存在していました。酵素はその特異性が細やかな条件により変化する可能性もありますので、様々な条件でヒポキサンチンを有する2本鎖DNAを切断するかを検討しましたが、結果は得られませんでした。

もうひとつの可能性イノシン

さて話は一転しますが、ヒポキサンチンを有するリボースをイノシンと言います。また、イノシンのリボースにリン酸を導入されたものをイノシン酸と言います。一般には旨味成分と呼ばれるものです。実にそのアイデアは昼食の時に思いつきました。生物には、このイノシンをイノシン酸やイノシン3リン酸として多く有しています。また、特殊な機能をもつRNAにはこのイノシンが多く含まれることが知られていました。特殊な機能というのは、まだ完全に解析されているものではありませんが、論文に

よればヒトの脳において、その生物学的な複雑さと多様性を有するためにイノシンが必要であることが示唆されていました。また興味深いことに、イノシンを有するRNAが増加しすぎると精神神経疾患を罹患することが示されていました⁴。

思いついた事とは非常に単純です。エンドヌクレアーゼVがイノシンを有したRNAを切断しないか？というものです。分子生物学を学んだ事のある方は、ご存知かもしれませんが、能力的に似ていてもDNAに働く酵素がRNAにも同様に働くということはほとんどないといっているでしょう。例えるなら、単純に足が速いからと言ってサッカー選手になれないでしょうし、いくら切れる包丁とはいっても材木は切れない。というのに似ているかもしれません。しかし、すでに様々な可能性を試してきた後ではあったので、ダメでも仕方ないと言った思いで実験すると、これが見事にはまりました。つまりエンドヌクレアーゼVはイノシンを有したRNAを切断したのです。この結果は、以下のことを示唆しています。エンドヌクレアーゼVは、バクテリア（大腸菌）においてはDNA修復酵素として働き、ヒトにおいてはRNA編集酵素として働くということです。一つ

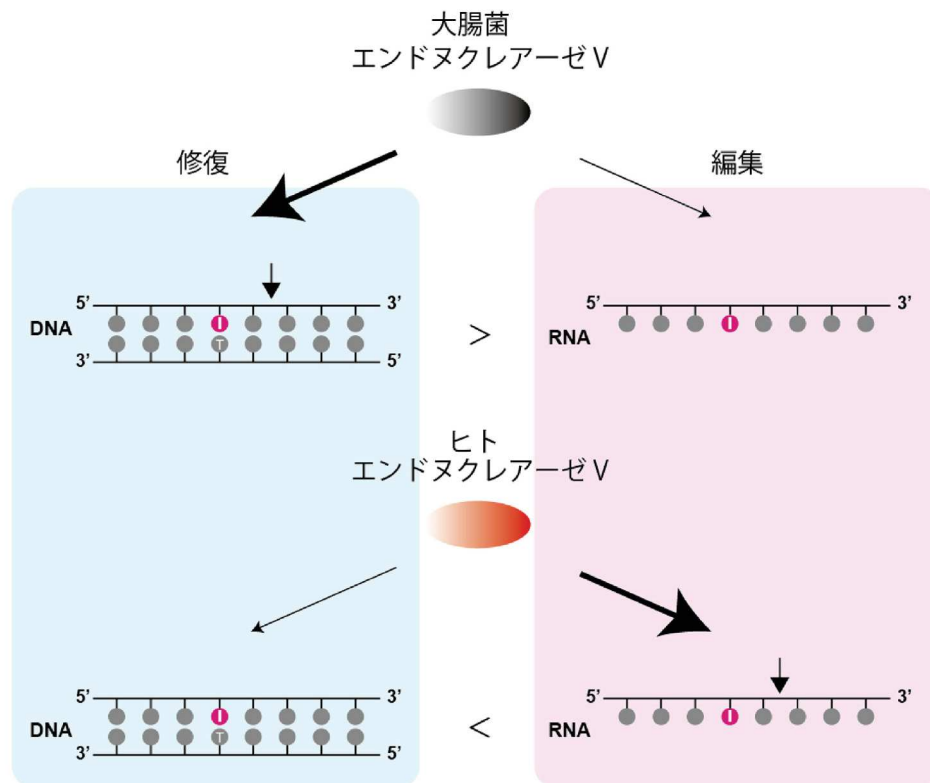


図2

の酵素が、生物の種によって全く違うものとして働いていたということです。(図2)。

おわりに

よくある話ではありますが、新しい事実がわかったからと言って多くの研究者に簡単に受け入れられたわけではありません。ましてDNAからRNAへの修復酵素の多様性を議論し理解してもらうのに、他の研究者とメールでのやり取り及び特に海外での学会発表を丁寧に行うことでなんとか理解してもらえるようになりました。ただ原著論文は無事にアクセプトを得られるまでに1年以上ほど掛って、なんとか日の目を見ることができました。これまでも何度かその労苦は経験してきたつもりですが、今回の論文はその中でも最も大変だった部類にはいると思います。ただ同時に非常に大きく評価されたのも事

実で様々なところから興味を持ってもらえたのは本当に幸運だったと思います。

参考文献

1. Morita, Y. *et al.* Human endonuclease V is a ribonuclease specific for inosine-containing RNA. *Nat Commun* 4, 2273 (2013).
2. Friedberg, E. C., Walker, G. C., Siede, W. & Wood, R. D. *DNA Repair and Mutagenesis*. (American Society for Microbiology Press, 2005).
3. Dalhus, B. *et al.* Structures of endonuclease V with DNA reveal initiation of deaminated adenine repair. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 16, 138 – 143 (2009).
4. Nishikura, K. Functions and regulation of RNA editing by ADAR deaminases. *Annu. Rev. Biochem.* 79, 321 – 349 (2010).

