

5TH ENDONUCLEASE

清成 信一

5番目のエンドヌクレアーゼ。タイトルをご覧になられた読者の方々はなんとも味気ない印象を持たれたことだろう。DNAのホスホジエステル結合を加水分解する酵素であるヌクレアーゼはその作用様式から大きくエキソヌクレアーゼとエンドヌクレアーゼに分けられる。エキソヌクレアーゼはDNA鎖の5'末端あるいは3'末端から1塩基分ずつ分解してモノヌクレオチドを生成する酵素を指し、エンドヌクレアーゼはDNA鎖の内部のホスホジエステル結合を分解する酵素を指す。今回、話題として取り上げるエンドヌクレアーゼV (EndoV)は大腸菌の抽出液中から発見された5番目のエンドヌクレアーゼという意味で名づけられた¹⁾。これは大腸菌R株由来の制限酵素が見つかった順に、EcoRI, EcoRIIと順番に名づけられているのと同様である。

さてEndoVの機能であるが、その単純な名前とは裏腹に非常に興味深い酵素活性を有している。我々の生体内ではDNA中のシトシン塩基 (C) が脱アミノ化という反応を起こしてウラシル塩基 (U) に変換される場合がある。これよりも頻度は低いものの、同様にアデニン塩基 (A) が脱アミノ化を起こしてヒポキサンチン塩基 (Hx) に変換されることが知られている。大腸菌における生化学的な研究からEndoVはDNA中に生じたヒポキサンチン塩基 (注: ヌクレオシド名としてはイノシンとなる) を認識し、そこから3'側に1塩基分だけ離れたホスホジエステル結合を分解する酵素活性を有することが明らかとなっている (図1)。EndoVの発見から35年あまりが経とうとしているが、他のDNA修復酵素ではみられない特徴的な切断様式の生物学的意義やその後のDNA修復経路の全容は未だに明らかとなっていない。

EndoVが発見されてから細菌やアーキアにおける生化学的、構造生物学的な研究は絶え間なく行われてきた。しかしながら、高等真核生物における研究はほとんど行

われていなかった。ようやく2003年になってマウス由来のEndoVが試験管内における酵素活性を有するとともに、大腸菌のEndoV欠損株における相補性を有することが報告された²⁾。続いて好熱性細菌由来のEndoVと基質DNA複合体の結晶構造を報告した論文において、実験データは示されなかったものの、EndoVノックアウトマウスは腫瘍を形成しやすいとの記述が見られた³⁾。また、最近になって、二つの独立した研究グループからヒト由来のEndoVに関する論文報告が相次いだ^{4,5)}。ヒト由来のEndoVは試験管内で酵素活性を有するという論文とそれに反する内容の論文であったが、酵素の精製方法の違いなどさまざまな要因が考えられる。しかしながら、ここで注目すべきことは蛍光タンパク質と融合させたEndoVをヒト由来のがん細胞株内で強制発現させたところ、核の中でも核小体における局在が観察されたということである⁵⁾。これはEndoVが特にリボソームDNA (rDNA) の複製や修復に関与している可能性を示唆するものと考えられる。今後はEndoVによるDNA切断後のヒポキサンチン塩基除去修復経路の解明やヒトにおけるがんとの関わりなどについて研究が待たれるところである。

また、EndoVに特徴的なDNA切断様式を応用した遺伝子工学技術の開発も進んでいる。誌面の都合から詳しくは説明しないが、デオキシイノシン三リン酸 (dITP) 存在下でPCRを行うことで目的遺伝子にランダムに変異を導入する方法やライゲーションを技術基盤とする次世代シーケンシング法においてEndoVの応用研究が行われており、数多くの論文報告がなされている^{6,7)}。

以上、EndoVの最新知見について概説した。この酵素がDNA中に生じたヒポキサンチン塩基の除去に関与していることは間違いないが、近い将来、高等真核生物において染色体の恒常性を維持するために必要な未知なる機能が明らかになる可能性が高い。その暁には単に5番目のエンドヌクレアーゼではなく、本来の役割にふさわしい名前が与えられるかもしれない。

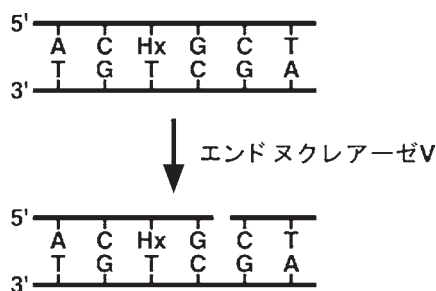


図1. EndoVによるヒポキサンチン塩基の認識とDNA切断様式

- 1) Cao, W.: Endonuclease V: an unusual enzyme for repair of DNA deamination, *Cell. Mol. Life Sci.*, **70**, 3145 (2013).
- 2) Moe, A. et al.: *Nucleic Acids Res.*, **31**, 3893 (2003).
- 3) Dalhus, B. et al.: *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **16**, 138 (2009).
- 4) Mi, R. et al.: *Mutat. Res.*, **735**, 12 (2012).
- 5) Fladeby, C. et al.: *PLoS One*, **7**, e47466 (2012).
- 6) Wang, Z. et al.: *Mol. Biotechnol.*, **53**, 49 (2013).
- 7) Ho, A. et al.: *BMC Genomics*, **12**, 598 (2011).