

P1-026

Y ファミリーDNA ポリメラーゼによる モノ ADP リボシル化グアニンの乗り越え合成

川西優喜¹、松川和樹¹、高村岳樹²、大橋英治³、戸塚ゆかり²、渡辺雅彦⁴、杉村隆²、花岡文雄⁵、大森治夫³、若林敬二²、八木孝司¹
¹大阪府大・先端研、²国立がん研・がん予防ブ、³京大・ウイ研、⁴就実大・薬、⁵阪大・生命機能

Translesion DNA synthesis of mono ADP-ribosylated dG by Y-family DNA polymerases

Kawanishi Masanobu¹, Matsukawa Kazuki¹, Takamura Takeji², Ohashi Eiji³, Totsuka Yukari², Watanabe Masahiko⁴, Sugimura Takashi², Hanaoka Fumio⁵, Ohmori Haruo³, Wakabayashi Keiji², and Yagi Takashi¹

¹Res. Inst. Adv. Sci. Tech., Osaka. Pref. Univ., ²Cancer Prev. Proj., Natl. Cancer Center Res. Inst., ³Inst. Virus Res., Kyoto Univ., ⁴Fac. Pharm. Sci., Shujitsu Univ., ⁵Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ.

【目的】

モンシロチョウ(*Pieris rapae*)の蛹から単離されたアポトシス誘導蛋白質ピエリシン-1 は、DNA 中のグアニン残基を N^ε の位置でモノ ADP リボシル化する。核酸のモノ ADP リボシル化はこれまで報告がなく、生じる N^ε-(ADP-ribos-1-yl)-2'-dG (以下 N^ε-ADP-dG と略す) は新規の DNA 付加体である。今回この N^ε-ADP-dG のヒト Y ファミリーDNA ポリメラーゼの pol η、pol ι、pol κ による *in vitro* 乗り越え DNA 合成を解析した。

【方法】

N^ε-ADP-dG を部位特異的に 1 箇所だけ持つ 30mer オリゴヌクレオチドを作成し精製した。この鋳型オリゴヌクレオチドに、5' 末端を ³²P で標識したプライマーをアニールさせた後、pol η、pol ι、pol κ による伸長反応を行った。複数種のプライマーを用いることにより、(イ) N^ε-ADP-dG の 2 塩基手前から DNA 合成を開始する「Running start 実験」、(ロ) N^ε-ADP-dG から伸長を開始しその向かい側にどの塩基を挿入するかを調べる「Insertion 実験」、(ハ) N^ε-ADP-dG に A、T、G、C いずれかの塩基が対合した状態から DNA 鎖を伸長させる「Extension 実験」の、3 つの条件で伸長反応を行った。反応産物をポリアクリルア

ミドゲル電気泳動し、イメージングプレートを用いてオートラジオグラフを行い、プライマーの伸長の程度を測定した。

【結果】

pol κ が最も効率的良く N^ε-ADP-dG の向かい側に dCMP を挿入して、バイパスした。pol ι は dCMP の他に dTMP を挿入したが、それ以上の伸長反応は行わなかった。pol η も主に dCMP を挿入したが、伸長反応の程度は低かった。pol κ では N^ε-ADP-dG の向かい側に dC 以外の塩基が対合している状態、すなわちミスマッチ末端からの伸長反応がみられた。

【考察】

マウス細胞(*HPRT* 遺伝子)やヒト細胞(*supF* シャトルベクター)を用いてピエリシン-1 が誘発する突然変異を調べたところ、G から C、G から T への塩基置換が多く見られたが、今回の結果からは、どの DNA ポリメラーゼが誤った塩基を取り込むか特定することはできなかった。誤った塩基が取り込まれた後、ミスマッチ末端からの伸長反応には pol κ が関わっていることが示唆された。現在突然変異誘発の分子機構を検討中である。