

P-093

Studies on defense system against oxidative DNA damages in an aerobic thermophile *Thermus thermophilus*

Kanako Kondo, Shinichi Tokishita, Toshihiro Ohta
Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

In aerobic bacteria, their DNA bases are frequently oxidized by reactive oxygen species (ROS). It is known that 8-oxo-G mispairs with adenine and, therefore, causes G:C→T:A mutations. An extremely thermophilic eubacterium, *Thermus thermophilus*, grows optimally at 70-75°C. In aerobically growing cells of *T. thermophilus*, it is assumed that oxidation reactions occur at a much higher frequency compared with mesophilic cells. We constructed *mutM* and *mutY* deletion mutants of *T. thermophilus* and demonstrated that spontaneous mutation rate of G:C→T:A was extremely higher in a *mutM* strain (defect in 8-oxo-G glycosylase), but not in a *mutY* strain (defect in MutY glycosylase), compared with a wild-type parent strain. On the other hand, it has been known that *T. thermophilus* biosynthesizes carotenoids as well as thermo-philic-specific polyamines such as pentamines and hexamines. We have investigated possible protective effects of these compounds against ROS reaction to DNA. After isolation of deletion mutants either in *speB* (polyamine biosynthesis) or *crtB* (carotenoid biosynthesis) in a *mutM*⁺ and a *mutM*⁻ background, spontaneous mutation rates are going to be compared with their parent strains.

好気性高度好熱菌におけるDNA酸化損傷の防御と修復に関する研究

近藤 加奈子、時下 進一、太田 敏博
東京薬科大学・生命科学研究科

好気性細菌は細胞内で生成する活性酸素によって、DNAが酸化損傷を受けており、特にグアニンが酸化された8-oxo-Gはアデニンと誤対合して突然変異を引き起こす。高温では化学反応が進みやすいため、至適生育温度が70-75°Cの高度好熱菌 *Thermus thermophilus* では8-oxo-Gの生成頻度も中温菌に較べて高いと推測される。この高度好熱菌には8-oxo-Gを除去するDNAグリコシラーゼ (*MutM*)、8-oxo-Gと誤対合したAを除去するDNAグリコシラーゼ (*MutY*) のホモログが存在する。*mutM* 遺伝子欠損変異株を分離して調べた結果、野生株と比べてG:C→T:A自然突然変異率が著しく上昇したが、*mutY* 欠損株では自然突然変異率の上昇は観察されなかった。

一方、*T. thermophilus* はカロテノイド色素を生成すること、また、高度好熱菌に特有の長鎖ポリアミン (ペンタミン類やヘキサミン類) を生成することが知られている。そこで、これらの物質が活性酸素によるDNAの酸化損傷の生成を防御している可能性について検討した。ポリアミン生成関連遺伝子 *speB* 破壊株、およびカロテノイド生成関連遺伝子 *crtB* 破壊株を分離し、G:C→T:A自然突然変異率について親株と比較した結果について報告する。

P-094

Functional analysis of *ygjD* and *yeaZ* orthologs in DNA repair of *Deinococcus radiodurans* and *Thermus thermophilus*

Takefumi Onodera^{1,3}, Akira Nakamura²,
Katsuya Satoh³, Toshihiro Ohta¹, Issay Narumi³

¹Tokyo Univ. of Pharm. and Life Sci., ²Univ. of Tsukuba,

³Ion Beam Mutagenesis Research Group, JAEA

The *ygjD* and *yeaZ* orthologs are highly conserved in a wide variety of organisms. In recent years, functions of the orthologs were reported to be some relationships with DNA maintenance, but a functional correlation has not been found among different organisms. In this study, the effect of disruptions in *ygjD* and *yeaZ* orthologs in *Deinococcus radiodurans* (*DrygjD*, *DryeaZ*) as well as *Thermus thermophilus* (*TtygjD*, *TtyeaZ*) to a variety of DNA damage agents were investigated.

The *DrygjD*, *DryeaZ*, *TtygjD* and *TtyeaZ* disruptants strains were treated with UV, mitomycin C (MMC), methyl methanesulfonate (MMS), nitrosoguanidine (MNNG), γ-rays, and H₂O₂, and their survival rates were measured. Notably, all the disruptants exhibited high sensitivity to MMC rather than other DNA agents used, which causes inter- and intrastrand DNA crosslinking. These results suggest that *ygjD* and *yeaZ* genes are involved in the DNA repair system and play a critical role in the MMC-induced DNA damage in *D. radiodurans* and *T. thermophilus*.

放射線抵抗性細菌と高度好熱菌のDNA修復における *ygjD* 及び *yeaZ* オルソログの機能解析

小野寺 威文^{1,3}、中村 顕²、佐藤 勝也³、太田 敏博¹、
嶋海 一成³

¹東京薬科大学・院 生命科学、²筑波大学・院 生命環境科学、
³原子力機構 変異誘発

ygjD/yeaZ 遺伝子ファミリーは、原核生物や真核生物、古細菌などの多くの生物種間で広く保存されている機能未知遺伝子の一群である。近年、当該遺伝子の機能解析の結果が相次いで報告されており、DNAに関連する何らかの機能が推測されるものの、生物間での機能的相関性は見られていないのが現状である。そこで我々は、*ygjD*, *yeaZ* 遺伝子の機能解明を行うために、放射線抵抗性細菌 *Deinococcus radiodurans* と、その近縁種である高度好熱菌 *Thermus thermophilus* をモデル生物として、*ygjD*, *yeaZ* 遺伝子の分子遺伝学的解析を行った。

D. radiodurans の *ygjD*, *yeaZ* オルソログである *DrygjD* 及び *DryeaZ* の遺伝子破壊株と *T. thermophilus* の *ygjD*, *yeaZ* オルソログである *TtygjD* 及び *TtyeaZ* の遺伝子破壊株を用いて、UV、MMC、MMS、MNNG、γ線及びH₂O₂に対する生存率を測定した。その結果、*D. radiodurans* と *T. thermophilus* の各遺伝子破壊株は、MMCに対して著しい感受性を示した。これより、*D. radiodurans* 及び *T. thermophilus* の *ygjD*, *yeaZ* オルソログは、DNA架橋損傷の修復機構に大きく関与していることが示唆された。