




論文題目 酸化損傷ヌクレオチド分解酵素 MTH1 による pH 依存的基質認識に関する
構造生物学的研究

審査内容 ヒト MutT homolog-1(hMTH1)は、酸化ストレスにより生じる種々の酸化損傷ヌクレオシド三リン酸を一リン酸へと加水分解することにより、突然変異の原因となる酸化損傷塩基の DNA への取り込みを防ぐ働きをする酵素である。

これまでに、山縣らは hMTH1 と酸化損傷ヌクレオシド三リン酸である 8-oxo-dGTP および 2-oxo-dATP との複合体の結晶構造から、「hMTH1 の幅広い基質特異性発現は、基質認識部位に存在する隣り合う 2 つのアスパラギン酸のプロトネーション部位を変えることで起こる」という新しい機構を推定していた。しかし、これらの結晶はアスパラギン酸のプロトネーションが起きやすい pH 4.0 という生理的条件よりもかなり低い pH で得られたものであるため、生理的条件下でのこの新しい機構の存在は、中性付近で得られる結晶の構造を明らかにしないかぎり分からない。本研究では、N 末変異型 hMTH1 を用いることで野生型 hMTH1 に見られた N 末残基の不均一性を改善し、ストリークシーディング法を利用することによって、中性領域で hMTH1 と 8-oxo-dGTP および 2-oxo-dATP との複合体の高分解能の結晶を再現性よく得ることに成功した。これらの X 線結晶構造解析の結果、中性領域でも pH 4.0 で観測されたように、8-oxo-dGTP を認識するときは Asp119 がプロトネーションし、2-oxo-dATP を認識するときは Asp120 がプロトネーションしていることが明らかになり、生理的条件下においても、これまでに提案された新しい幅広い基質認識機構が支持された。さらに、pH5.6~10.1 での両複合体（合計 17 種）の結晶構造解析を行い、pH 依存的基質認識を調べたところ、pH が上昇するにつれて Asp119、もしくは Asp120 の脱プロトネーションに起因する基質認識様式の変化や基質結合の減少が明らかになった。これらの結果は、生理的条件下、hMTH1 は、通常と比べて非常に高い pK_a をもつ 2 つの隣り合うアスパラギン酸残基のプロトネーション部位を交換することで、2 つの異なる基質を認識するという新規の幅広い基質特異性発現機構をより確実に支持するものである。以上の理由により、本論文は博士の学位論文として十分値するものと判定した。

審査委員	機能分子構造解析学	教授	山縣 ゆり子 
審査委員	生命分析化学	教授	森岡 弘志 
審査委員	医療薬剤学	教授	丸山 徹 
審査委員	構造機能物理化学	准教授	黒崎 博雅 