

# UVA による酸化的遺伝子損傷の細胞内修復機構

広島大学大学院 理学研究科

井出 博

Solar ultraviolet radiation with wavelength between 320-400 nm (UVA) passes through stratospheric ozone without absorption and reaches the earth's surface. When exposed to UVA, reactive oxygen species (ROS) generated by endogenous photosensitizers cause damage to DNA, mostly oxidative base lesions, in living organisms. In this study, the damage specificity has been elucidated of two base excision repair enzymes [endonuclease III homolog 1 (NTH1) and 8-oxoguanine glycosylase 1 (OGG1)] that are potentially involved in removal of UVA-induced oxidative DNA lesions. Duplex oligonucleotide substrates containing unique lesions were incubated with the enzymes and products were analyzed by denaturing polyacrylamide gel electrophoresis. Pyrimidine lesions such as uracil, thymine glycol, 5,6-dihydrothymine, and 5-hydroxyuracil were efficient substrates for NTH1, and purine lesions such as 7,8-dihydro-8-oxoguanine and formamidopyrimidine were also good substrates for OGG1. Interestingly, further analysis of the damage specificity revealed that NTH1 recognized formamidopyrimidine, a purine lesion, and OGG1 recognized the pyrimidine lesions except thymine glycol but in a paired base-dependent manner. These results suggest that NTH1 and OGG1 may be able to act as a mutual backup enzyme, albeit not perfectly, in cells. The repair activity for 5-formyluracil, a major UVA-induced oxidative lesions, was also investigated using mouse tissues. Incubation with the crude cell extracts from several tissues including brain, heart, lung, thymus, and liver all resulted in incision of a substrate at the 5-formyluracil site, demonstrating the presence of repair activity for this lesion. Several lines of evidence suggested that the observed activity for 5-formyluracil resided on a novel enzyme that had not been identified before.

## 1. 緒言

太陽光には、UVA (320-400 nm)、UVB (290-320 nm)、UVC (190-290 nm) の紫外線成分が含まれる (表1)。この波長域に吸収帯を持つ分子が紫外線を吸収すると、分子の構造が変化したり、活性酸素などの反応種を生じ他の分子を攻撃する。DNAに含まれる4種の塩基 (A, G, C, T) はいずれも260nm付近に吸収極大を持ち、約300nm以下の紫外線を吸収する。したがって、UVCおよびUVBは、DNAに吸収され直接的に塩基の構造変化を引き起こ

す。水素結合による相補的な Watson-Crick 型塩基対形成は、遺伝子の複製や発現に中心的な役割を果たすため、構造変化に伴う塩基対形成能の異常は、生物にとって極めて重大な脅威となる。UVCおよびUVBは、2つのピリミジン塩基が連続した dipyrimidine site に cyclopyrimidine dimer (CPD) と (6-4) photoproduct (6-4PP) を生じる (図1A)<sup>1)</sup>。両損傷はDNA複製を強く阻害するため細胞致死の原因となるほか、6-4PPでは、損傷を乗り越えたDNA複製が起こると、新生鎖に相補的ではない誤ったヌクレオチドが取り込まれ突然変異が誘発される。ヒトでは、表皮を形成する細胞の失活や突然変異、さらに悪い場合は皮膚癌の発症にもつながる。幸いなことに、地球を取りまくオゾン層は紫外線を吸収するため、地上に生息する生物は、最も脅威となるUVCのすべて、および短波長領域UVBによるDNAの傷害を免れている。

一方、UVAはオゾン層にまったく吸収されず地表に到達する。UVAはUVBに比べ光子エネルギーは小さいが、地表に到達する全エネルギー量はUVBの約10倍に達する (表1)。DNAはUVAの波長域 (320-400nm) には吸収帯を持たないため、UVCやUVBとは異なり直接的にはDNA損傷を引き起こさない。しかし、細胞内にはUVA波長域に吸収を持つ多種の色素団分子 (たとえば、NAD、FAD、ポルフィリン化合物など) が存在する。これらの分子は、本来細胞内において物質・エネルギー代謝に関連した補酵素として重要な働きをしているが、UVAが細胞に照射されると励起され、エネルギー移動により活性酸素 (Reactive oxygen species, ROS) が発生する (Type II reaction と呼ばれる)<sup>2)</sup>。

表1 太陽光の紫外線とDNA損傷

紫外線成分	UVC	UVB	UVA
波長 (nm)	190-290	290-320	320-400
相対エネルギー (%) <sup>a</sup>	0	0.5	5.6
DNAの吸収	あり	あり (短波長)	なし
DNA損傷 <sup>b</sup>	CPD, 6-4PP	CPD, 6-4PP	酸化損傷
DNA修復機構 <sup>c</sup>	NER	NER	BER

<sup>a</sup> 地表に到達する太陽光エネルギー (紫外線、可視光、赤外線) に占める割合

<sup>b</sup> CPD: cyclopyrimidine dimer, 6-4PP: (6-4) photoproduct

<sup>c</sup> NER: nucleotide excision repair, BER: base excision repair



Cellular repair mechanisms of oxidative DNA damage induced by UVA

Hiroshi Ide

Graduate School of Science, Hiroshima University

ROSは、周辺に存在するDNA、生体膜、タンパク質と反応しこれらの分子を酸化する。生体膜の脂質過酸化やタンパク質の分解はこれらを再合成することにより対処できるが、遺伝情報を担うDNAの損傷は、UVCおよびUVBの場合と同様に生命活動にとって多大な脅威となる。

細胞内色素団分子が関与するUVA由来のDNA損傷としてはthymine glycol (TG), 5-formyluracil (FU), 7,8-dihydro-8-oxoguanine (OG), 2,6-diamino-4-hydroxyformamidopyrimidine (FAPY)などが同定されている(図1B)<sup>3-5)</sup>。TGおよびFAPYは突然変異性は低いが、いずれもDNA複製を強く阻害する。一方、FUおよびOGは複製阻害効果は低いが、突然変異性を示す。したがって、DNAに生じたこれらの損傷は、速やかに除去される必要がある。最近、これらの酸化損傷を認識する哺乳類修復酵素(ヒトおよびマウスNTH1, OGG1)が同定され遺伝子がクローニングされた<sup>6,7)</sup>。NTH1はTG, OGG1はOGおよびFAPYを認識し、これらの損傷をDNAから除去する。さらに、OGG1については、

ノックアウトマウスが作製され phenotype の解析が行われたが、マウスは正常に発育し有意に高い発癌率は観察されなかった<sup>8,9)</sup>。NTH1ノックアウトマウスはまだ報告されていないが、大腸菌のNTH1ホモログ欠損株(nth)では、明確な phenotype が認められないことから<sup>10)</sup>、NTH1ノックアウトマウスでも同様な結果が予想される。したがって、NTH1およびOGG1は哺乳類の主要な酸化損傷修復酵素として位置づけられているにもかかわらず、これらの酵素による修復欠損が直ちに phenotype として現れない可能性が高い。DNAの酸化は、UVAのような外的要因だけでなく好氣的代謝といった内的要因でも生じるため、遍在性の高い損傷である。このような損傷に対しては、何らかの原因で一つの修復酵素が働かない場合、他の酵素がこれをバックアップすることにより fail-safe system を形成している可能性が考えられる。

本研究では、以上の観点からNTH1およびOGG1の基質特異性を詳細に調べ、認識する損傷のオーバーラップによる修復バックアップの可能性をまず検討した。さらに、FUを認識する哺乳類修復酵素はこれまでに同定されていないことから、この活性の検索もあわせて行った。

## 2. 実験

### 2.1 オリゴヌクレオチド基質

TG, urea (UR), 5,6-dihydrothymine (DHT), 5-hydroxyuracil (HOU)は配列1のXの部位、FUは配列2のYの部位、OGおよびFAPYは配列3のZの部位に選択的に導入した。

配列1 ACAGACGCCAXCAACCAGG

配列2 CATCGATAGCATCCGYCACAGGCAG

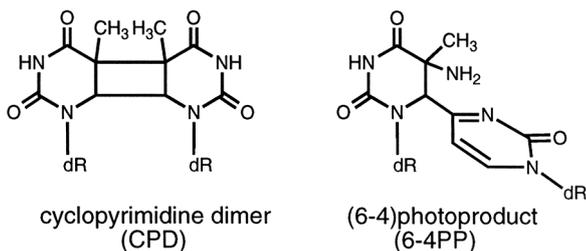
配列3 CATCGATAGCATCCTZCCTTCTCTC

配列1-3の相補鎖はホスホロアミダイト法により合成した。DHT, HOU, FU, OGは、それぞれ対応する損傷アミダイトモノマーを用いて合成し、導入した損傷塩基が分解しない穏和な条件下で脱保護を行った。TGは対応する位置にチミンを含むオリゴヌクレオチド(配列1, X=T)のKMnO<sub>4</sub>処理により合成し、逆相HPLCにより分取精製した。URを含む基質は、TGを含むオリゴヌクレオチドのアルカリ処理(pH11.4)により調製した。FAPYは、前駆体として7-メチルグアニンをDNAポリメラーゼ反応により導入し、これを室温下、pH11.4で処理しFAPYに変換した。

### 2.2 修復酵素アッセイ

マウスNTH1, ヒトOGG1, 大腸菌endonuclease III (Endo III), formamidopyrimidine glycosylase (Fpg) およびヒトmethylpurine glycosylase (MPG)は、それぞれクローニングした遺伝子のマウス大腸菌発現系を用いて発現し、イオン交換およびアフィニティークロマトグラフィーによりSDS-PAGEで単一バンドになるまで精製した<sup>11, 12)</sup>。酵素

## A UVB-induced DNA damage



## B UVA-induced DNA damage

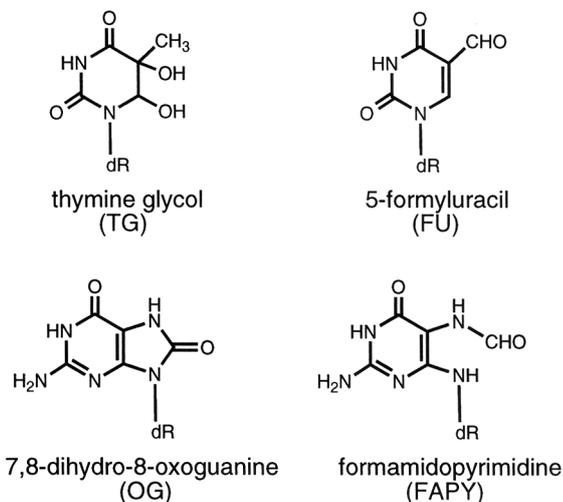


図1 UVBおよびUVAにより生成するDNA損傷  
A: UVBにより生成するピリジン二体, B: UVAにより生成する酸化損傷

活性アッセイは以下の通り行った。損傷を含むオリゴヌクレオチドを $5'$ - $^{32}\text{P}$  標識後、相補鎖とアニールシ二重鎖基質とした。基質 (5-10nM) を酵素 (1-10ng) と $37^\circ\text{C}$  でインキュベートした。反応生成物は16%変性ポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) で分離し、バンドの放射活性はBAS2000により解析した。NaBH<sub>4</sub>トラッピングアッセイでは、標識基質とNaBH<sub>4</sub> (50mM) を混合し、これに酵素を加え $37^\circ\text{C}$  で1時間インキュベートした。反応生成物は、10% SDS-PAGE で分離し、バンドの定量は活性アッセイと同様に行った。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 NTH1の損傷特異性

NTH1が認識するDNA損傷を明らかにするために、UR, TG, DHT, HOUを同一配列中に含むオリゴヌクレオチド二重鎖を基質とし基質特異性を検討した。UR, TG, DHTの対合塩基にはA, HOUの対合塩基にはGを用いた。基質をNTH1とインキュベート後、生成物をPAGEで分析した。4種の損傷はすべてNTH1に認識され、損傷部位で特異的に切断された生成物バンドが認められた。また、切断生成物のゲルの移動度から、 $3'$ 末端はhydroxypentenal- $5'$ -phosphateであり、NTH1のAPリアーゼ活性により生じた $\beta$ 脱離生成物であることが示された。次に、これらの損傷に対する活性を定量的に比較するために、切断バンドの放射活性を測定し切断生成物の量を定量した。URに対する活性は他の損傷に比べ2倍程度高いものの、すべての損傷はNTH1のよい基質となることがわかった (図2A)。

原核生物 (大腸菌) には、NTH1のホモログEndo IIIが存在する<sup>6, 7, 11</sup>。両酵素の基質特異性の差異を明らかにするために、Endo IIIのUR, TG, DHT, HOUに対する活性をNTH1と同様な方法で定量した。Endo IIIは、UR, TG, HOUを同程度の効率で認識したが、DHTに対しては著しく低い活性しか示さなかった (図2B)。以上のNTH1およびEndo IIIの結果から、両酵素ではDHTに対する活性が大きく異なることが示された。この理由を明らかにするために、TGおよびDHTに対するNTH1とEndo IIIの酵素パラメータ ( $K_m$ ,  $k_{cat}$ ) を決定した。NTH1の $K_m$ はTGとDHTで同じ値であったのに対し (3nM), Endo IIIのそれはTG ( $K_m=19\text{nM}$ ) とDHT ( $K_m=51\text{nM}$ ) で27倍の差が認められた。この結果は、Endo IIIのDHTに対する親和性が極めて低いことを示している。また、NTH1の $k_{cat}$ はTGとDHTで同程度 ( $k_{cat}=0.02-0.03\text{min}^{-1}$ ) であったのに対し、Endo IIIの値は、TG ( $k_{cat}=0.78\text{min}^{-1}$ ) とDHT ( $k_{cat}=0.07\text{min}^{-1}$ ) で11倍の差があった。これらのパラメータから、DHTに対するEndo IIIの極めて低い活性は、基質親和性の低下および触媒速度の減少の両因子に由来していることが明らかとなった。

上記の活性アッセイの結果から、NTH1はピリミジン

環開裂生成物 (UR), C5-C6飽和生成物 (TG, DHT), C5水酸化物 (HOU) をDNAから同程度の効率で除去することが示された。さらに、NTH1の酵素触媒メカニズムを明らかにするため、反応中間体の解析を行った。この目的で、NTH1と基質をNaBH<sub>4</sub>存在下でインキュベートし、反応生成物をSDS-PAGEで分析した。その結果、遊離の基質のほかにNTH1-基質複合体が確認された。後者は、N-グリコシラーゼ活性により生じた糖のアルデヒド基 (C1'位) とNTH1の活性中心にあるLysの間に形成されたSchiff塩基 (反応中間体) がNaBH<sub>4</sub>により還元され生じたものと考えられる (図3)。また、UR, TG, DHT, HOUでトラップされた反応中間体の量は同じであった。この結果は、活性アッセイの結果とも一致した。

#### 3.2 OGG1の損傷特異性

OGG1はプリン酸化損傷OGおよびFAPYをDNAから除去する活性を持つことが知られている<sup>7, 8</sup>。OGについては、ホスホロアミダイト法を用いたオリゴヌクレオチド合成法が確立されているため、多くの研究が行われている。しかし、FAPYを特異的に含むオリゴヌクレオチド基質の

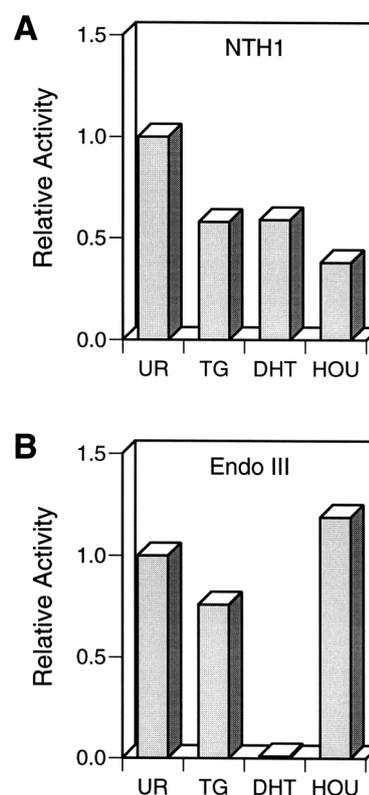


図2 NTH1およびEndo IIIのピリミジン酸化損傷に対する活性  
urea (UR), thymine glycol (TG), 5,6-dihydrothymine (DHT),  
5-hydroxyuracil (HOU) を含む基質と酵素をインキュベート  
し、生じた鎖切断生成物をPAGE分析により定した。各基質  
に対する活性はURに対する相対値として示す。A: NTH1, B:  
Endo III

合成法はこれまでに確立されていなかったため、OGG1の両基質に対する活性の定量的な比較は行われていなかった。本研究では、まずFAPY導入法を検討した。7-メチルグアニン(7mG)は、アルカリ処理によりイミダゾール環が開環しメチルFAPYに変化する。そこで、FAPYの前駆体として、7-メチルデオキシグアノシン三リン酸をDNAポリメラーゼ反応により目的の配列中に導入した。これを室温下、pH11.4で処理し、7mGをFAPYに変換した。ピペリジン処理および種々の酵素処理により7mGからFAPYへの変換効率を調べた結果、導入した7mGは定量的にFAPYに変換されていることが示された。7mGはデプリネーションを起こしやすい塩基であるが、実験に用いた条件ではデプリネーションは起こらなかった。

上記の方法により同一配列中にOGおよびFAPYを含むオリゴヌクレオチド基質の調製が可能になったことから、これを用いてOGG1の両損傷に対する活性を比較検討した。

OGおよびFAPYの対合塩基にはCを用いた。基質とOGG1をインキュベートし、生成物をPAGEで分析した結果、損傷部位で特異的に切断されたバンドが認められた(図4)。両損傷とも生成物は $\beta$ 脱離により生じた切断生成物であった。大腸菌のOGG1機能ホモログFpgについても同様な実験を行ったところ、生成物としては $\delta$ 脱離生成物が生じた(図4)。したがって、真核生物由来OGG1および原核生物由来Fpgは、OGおよびFAPYを認識しN-グリコシラーゼとして作用するが、引き続きAPリアーゼの作用モードは異なると考えられる。次に、種々の基質濃度条件下で生じた生成物を定量し、OGG1の酵素パラメータを決定した。OGおよびFAPYに対する $K_m$ は、それぞれ23nMおよび15nM、また $k_{cat}$ は、それぞれ $0.034\text{min}^{-1}$ および $0.025\text{min}^{-1}$ となり、両損傷で大きな違いは認められなかった。その結果、反応効率( $k_{cat}/K_m$ )もほぼ等しい値となった(OG:FAPY=0.9:1)。以上の結果から、OGG1が主要プリン酸化損傷OGおよびFAPYを同じ効率でDNAから除去することが明らかとなった。

### 3.3 NTH1とOGG1の認識基質オーバーラップ

NTH1とOGG1の基質オーバーラップを調べるために、両酵素のUR, TG, DHT, HOU, OG, FAPYに対する活性を調べた。既に述べたNTH1(3.1)およ

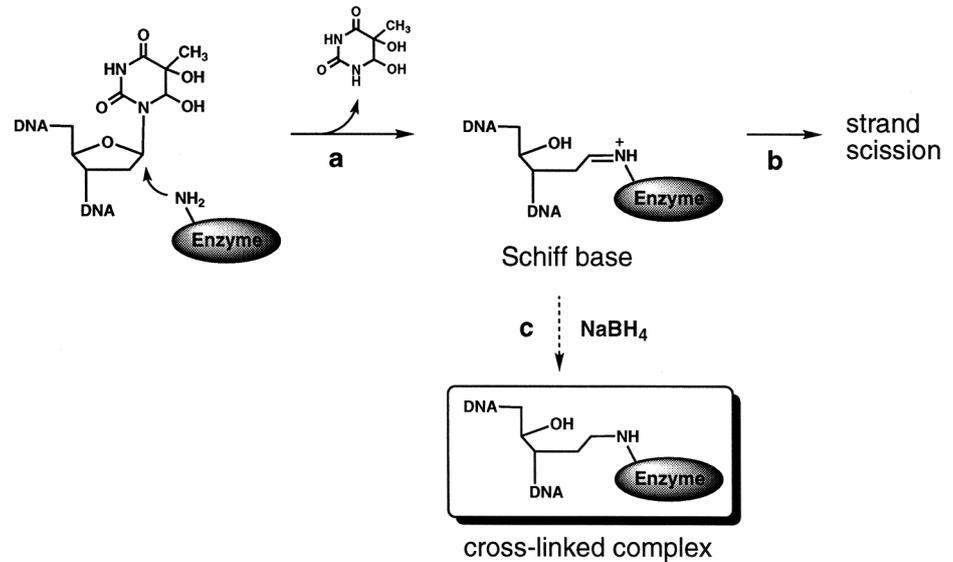


図3 NaBH<sub>4</sub>によるNTH1反応中間体のトラップ反応

NTH1の活性部にあるLysのデオキシリボースC1'への攻撃によりN-グリコシド結合が切断され(a)、NTH1と基質の間に反応中間体(Schiff base)が形成される。これから $\beta$ 脱離反応が起こりDNA鎖が切断される(b)。NaBH<sub>4</sub>存在下では、Schiff baseのimineが還元され、安定な酵素-基質クロスリンク複合体が形成される(c)。

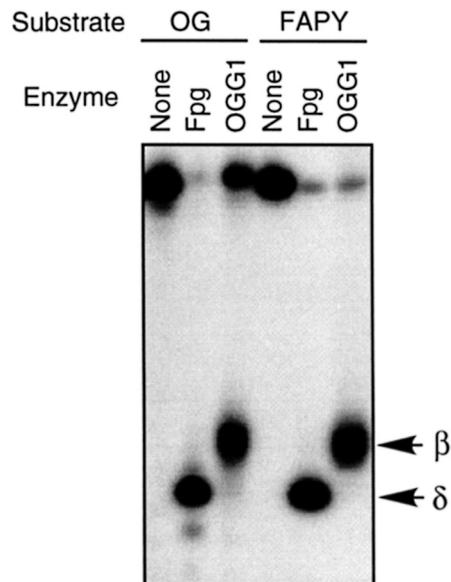


図4 OGG1およびFpgのプリン酸化損傷に対する活性分析  
7,8-dihydro-8-oxoguanine(OG)およびformamidopyrimidine(FAPY)を含む基質を、OGG1あるいはFpgとインキュベートし、生成物を16%変性PAGEで分析した。図中の矢印は、 $\beta$ 脱離生成物と $\delta$ 脱離生成物を示す。

びOGG1(3.2)の実験では、損傷の対合塩基をA(UR, TG, DHT), G(HOU), C(OG, FAPY)としたが、本実験では4種の対合塩基(A, G, C, T)をすべて用いて活性を検討した。活性は、基質と酵素のインキュベーションにより生成した切断バンドから定量した。NTH1は、UR:N, TG:N, DHT:N, HOU:N(N=A, G, C, T)だけでなく、これまでOGG1のみに認識されると考えられてい

たFAPY:N (N=A, G, C, T) に対しても活性を示した(図5). さらにFAPYに対する活性は, NTH1の本来の基質の1つであるTGに対する活性と同程度であった. しかし, NTH1はOG:Nに対してはまったく活性を示さ

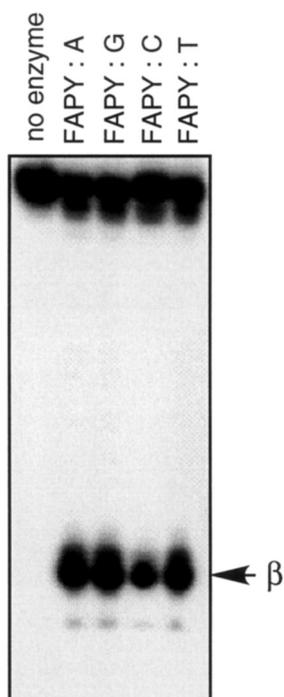


図5 FAPYに対するNTH1の活性分析  
4種の塩基と対合したFAPY (FAPY:N, N=A,G,C,T)を含む基質をNTH1とインキュベートし, 生成物を16%変性PAGEで分析した. 図中の矢印は, β脱離生成物を示す.

なかった. 一方, OGG1は, NTH1と異なり, 同じ損傷でも対合塩基により活性が変化した. プリン損傷に対する活性の対合塩基依存性は, OGではOG:C >> OG:T > OG:G > OG:A, またFAPYではFAPY:C > FAPY:T ~ FAPY:G ~ FAPY:Aとなった. ピリミジン損傷では, UR:C, DHT:C, HOU:Cに対し活性を示したが, 他の塩基(T, G, A)と対合した場合は活性は認められなかった. したがって, OGG1はこれまで報告されているプリン損傷ばかりではなく, ピリミジン損傷に対しても潜在的な修復活性を持つが, この活性は特徴的な対合塩基依存性を示すことが明らかとなった.

### 3.4 FU修復活性

FUを認識する哺乳類修復酵素を, 精製酵素および細胞粗抽出物を用いて検討した. 精製酵素を用いた検索では, 酸化損傷修復酵素(NTH1, OGG1)のほか, 大腸菌のFU修復酵素であるAlkAの哺乳類機能ホモログ(MPG)を用いた<sup>12, 13</sup>. しかし, NTH1, OGG1, MPGいずれもFUに対しては活性を示さなかった. したがって, 哺乳類のFU修復酵素はこれまでに同定されていない新規なものであると考え, 細胞粗抽出液中のFU修復活性を調べた. マウスの脳, 心臓, 肺, 胸腺, 肝臓を摘出し, それぞれの細胞粗抽出物を調製した. これを基質とインキュベート後, 除タンパクし, 反応生成物をPAGEで分析した. その結果, 比活性に差はあるものの, 用いたすべての臓器でFU部位で切断された生成物が認められた(図6). この生成物は,

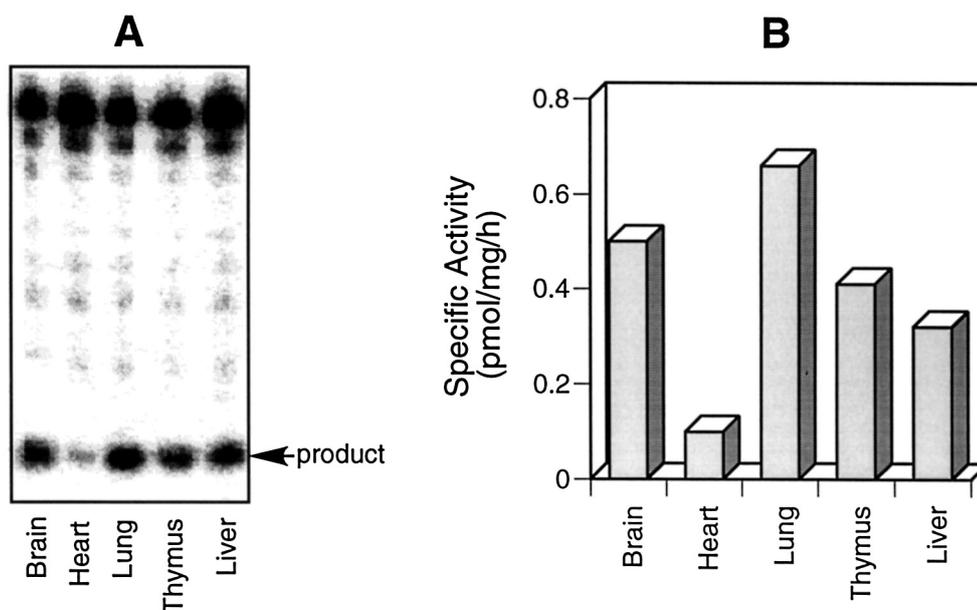


図6 マウス臓器のFU修復活性  
A: マウスから脳, 心臓, 肺, 胸腺, 肝臓を摘出し, 細胞粗抽出物を調製した. これを5-formyluracil (FU)を含む基質とインキュベートし, 生成物を16%変性PAGEで分析した. 図中の矢印は, FU特異的な切断生成物を示す. B: FU特異的な切断生成物を定し, 各臓器の比活性を示した.

FUの代わりに未損傷のチミンを含む基質では認められなかったことから、損傷特異的な活性であることが示された。活性を精製する目的で、細胞粗抽出物を大量に調製し、これを陽イオンクロマトグラフィーにより分離した。溶出された分画のFU, TG, OG活性を分析した結果、FU活性はTGおよびOG活性が溶出される分画とは明らかに異なった分画に溶出された。この結果は、精製NTH1およびOGG1がFUに対して活性を示さなかった結果とよく一致する。今後、この活性をSDS-PAGEで単一バンドになるまで精製し、得られた酵素の性状を詳細に解析していく予定である。

#### 4 総括

UVBおよびUVAは、それぞれ固有の遺伝子損傷を誘発し、前者ではピリミジン二量体(CPD, 6-4PP)が重要であるのに対し、後者では細胞内に存在する種々の色素が関与した酸化損傷が重要である。本研究では、UVAにより生じる酸化的塩基損傷の修復に関わる哺乳類修復酵素NTH1およびOGG1の損傷特異性を検討した。NTH1およびOGG1は、それぞれピリミジン損傷およびプリン損傷特異的修復酵素と考えられていた。実際、TGおよびOGは、それぞれNTH1およびOGG1のみに認識され、両酵素の固有な基質であった。しかし、他の損傷(UR, DHT, HOU, FAPY)は、対合塩基に依存した形で両酵素の基質となった。活性の対合塩基依存性に関する生物学的意味づけは今後の課題であるが、この結果は、酸化的塩基損傷修復におけるNTH1とOGG1の修復バックアップシステム形成を支持するものと考えられる。今後見つてくると予想される他の哺乳類酵素についても同様な検討を行い、細胞内における塩基除去修復バックアップシステムの全貌を明らかにしていく必要がある。また、これまでに真核生物では明らかにされていなかったFU修復活性がマウスの臓器に存在し、精製酵素を用いた検討およびクロマトグラフィーの溶出挙動から、この活性はNTH1, OGG1, MPGのいずれでもないことが示された。今後、この新規酵素をさらに精製し、UVAならびに種々の環境因子に対する遺伝子防御における役割を明らかにしていく必要がある。

本研究を遂行するあたりご援助を賜りましたコスメトロジー研究振興財団に厚く御礼申し上げます。

#### (引用文献)

- 1) Friedberg EC, Walker GC, Siede W, : DNA repair and mutagenesis, ASM Press, New York, 1995.
- 2) Lester P, Helmut S, : Singlet oxygen, UVA, and ozone, Methods in Enzymology, 319, Academic Press, New York, 2000.
- 3) Pouget JP, Douki T, Richard MJ, et al., : DNA damage induced in cells by gamma and UVA radiation as measured by HPLC/GC-MS and HPLC-EC and comet assay. Chem. Res. Toxicol., 13, 541-549, 2000.
- 4) Decarroz C, Wagner JR, Van Lier JE, et al., : Sensitized photo-oxidation of thymidine by 2-methyl-1,4-naphthoquinone. Characterization of stable photoproduct, Int. J. Radiat. Biol., 50, 491-505, 1986.
- 5) Saito I, Takayama M, Kawanishi S, : Photoactivatable DNA-cleaving amino acids: highly sequence-selective DNA photocleavage by novel L-lysine derivatives, J. Am. Chem. Soc., 117, 5590-5591, 1995.
- 6) Memisoglu A, Samson L, : Base excision repair in yeast and mammals, Mutat. Res., 451, 39-51, 2000.
- 7) Krokan HE, Nilsen, H, Skorpen F, : Base excision repair of DNA in mammalian cells, FEBS Lett., 476, 73-77, 2000.
- 8) Klungland A, Rosewell I, Hollenbach S, et al., : Accumulation of premutagenic DNA lesions in mice defective in removal of oxidative base damage, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 96, 13300-13305, 1999.
- 9) Minowa O, Arai T, Hirano M, et al., : Mmh/Ogg1 gene inactivation results in accumulation of 8-hydroxyguanine in mice, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 97, 4156-4161, 2000.
- 10) Cunningham RP, Weiss B, : Endonuclease III (nth) mutants of Escherichia coli, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82, 474-478, 1985.
- 11) Sarker AH, Ikeda S, Nakano H, et al., : Cloning and characterization of a mouse homologue (mNth1) of Escherichia coli endonuclease III, J. Mol. Biol., 282, 761-774, 1998.
- 12) Masaoka A, Terato H, Kobayashi M, et al., : Enzymatic repair of 5-formyluracil. I. Excision of 5-formyluracil site-specifically incorporated into oligonucleotide substrates by AlkA protein (Escherichia coli 3-methyladenine DNA glycosylase II), J. Biol. Chem., 274, 25136-25143, 1999.
- 13) Terato H, Masaoka A, Kobayashi M., et al., : Enzymatic repair of 5-formyluracil. II. Mismatch formation between 5-formyluracil and guanine during DNA replication and its recognition by two proteins involved in base excision repair (AlkA) and mismatch repair (MutS), J. Biol. Chem., 274, 25144-25150, 1999.