고신대학교 의과대학 학술지 제23권 제4호
Kosin Medical Journal
Vol. 23. No. 4, pp. 52~57, 2008

*Mycoplasma Hominis*에서 분리한 Type II-DNA Topoisomerase의 효소반응 특성

정인철*, 박인달

고신대학교 의과대학 생화학 교실*, 미생물학 교실

Enzymatic Properties of Type II-DNA Topoisomerase in *Mycoplasma Hominis*

In-Cheol Jeong*, Indal Park

Department of Biochemistry, Microbiology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea*

Abstract

Background : DNA topoisomerases are essential enzymes that catalyze the mutual conversion of the topological states of DNA. Two major classes of enzyme have been isolated from a number of organisms. Nevertheless, the enzymatic properties of DNA topoisomerases in the mycoplasma species has not been identified yet.
Methods : We have examined the activities of the DNA topoisomerases from various types of mycoplasma and the characterizations of partially purified type II-topoisomerase fractions from *Mycoplasma hominis*.
Results : The levels of the DNA topoisomerase activities in *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma fermentans* were higher than those in *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma penetrans* and *Mycoplasma pneumoniae*. DNA topoisomerase has been partially purified from *Mycoplasma hominis* by Ultrogel AcA34 gel filtration. This enzyme was highly stimulated in relaxation of supercoiled DNA by ATP-Mg2+. Topoisomerase mediated DNA cleavage was enhanced by mAMSA (eukaryotic type II inhibitor) and norfloxacin (prokaryotic type II inhibitor) at various concentrations (0.05-0.5 mM).
Conclusion : Our results suggest that enzymatic properties of type II-topoisomerase in *Mycoplasma hominis* have analogous to type II-human DNA topoisomerase and type IIA-bacterial topoisomerase.

Key words : type II-topoisomerase, Mycoplasma hominis, mAMSA, norfloxacin

서 론

DNA topoisomerase는 세포내 DNA 가닥의 절단과 재결합을 촉매하여 DNA의 supercoiling 상태를 조절하고 복제, 전사, 재 조합과 유사분열 과정 등의 DNA 대사 초기 단계의 효율성에 영향을 주어, 이러한 과정들이 진행되는 단계에서 발생하는 DNA의 topological problem을 해결해 준다.[1-4] 이와 같이 DNA topoisomerase는 세포내 여러 DNA의 기능에 필수적으로, 그들의 억제제는 세포독성을 가지고 있어 항생, 항암제로서 사용되고 있다.[4-6]

DNA topoisomerase는 그 촉매 기작에 따라 크게 두 형태로 분류되는데, type I은 DNA duplex의 한 가닥을 phosphodiester bond에서 끊고, 절단된 한 끝을 상대편 DNA 가닥을 축으로 한 바퀴 회전시킨 후, 끊어졌던 부분을 다시 연결한다. type II는 DNA의 두 가닥을 거의 동시에 끊고, DNA duplex의 다른 부분이 절단된 곳을 통과한 후, 절단 부위를 재 봉합하는데, 촉매과정에서 ATP 가수분해를 필요로 하는 것이 type I과 다른 점이다.[7] 이러한 분류 기준에 따라 Type I과 Type II로 나누고 다시 Subfamily로 IA와 IB 그리고 IIA와 IIB로 나누어 최근까지 밝혀진 생물들을 포함한 다양한 원핵생물과 진핵생물의 topoisomerase들을 분류하고 있다.[8]

*Mycoplasma hominis*는 세포벽이 없는 균으로써 glucose를 에너지원으로 사용하지 않으며 arginine을 이용하는 원형의 그람 양성균이다.[9] 이 균은 사람의 생식기에 서식하며 세균성 질염 환자에서 높은 비율로 나타나고, 자

교신저자 : 정 인 철
주소 : 602-702 부산광역시 서구 암남동 34번지
고신대학교 의과대학 생화학교실
TEL : 051-990-6418, FAX: 051-990-3081
E-mail : jpfe@ns.kosinmed.or.kr

궁내막염, 난관염, 분만 후 패혈증에도 나타난다. 더욱이 신우신염, 수술 후 상처에 감염 등과 같이 생식기 이외의 감염에도 연관성이 있는 균이다.[10-11] *Mycoplasma sp.*의 topoisomerase에 대한 연구에 대해서는 Horowitz 등[12]이 *Mycoplasma fermentans*와 *Mycoplasma pirum*의 효소 반응의 특성에 대한 보고이외에는 그의 밝혀져 있지 않은 실정이다. 또한 Forterre 등[13]에 의하면 *Mycoplasma mobile*과 *Mycoplasma pneumoniae*의 topoisomerase는 DNA 염기배열의 특징에 따라 topoisomerase IIA(topo IV)로 현재까지 분류되고 있으나 효소 분류 기준이 될 수 있는 효소반응 측면에서는 그의 고려되어 있지 않은 실정이다.

이와 같은 연구 배경에 따라 본 실험에서는 *Mycoplasma* 속의 몇 가지 균들에 대한 DNA topoisomerase의 활성을 비교하고, 사람 DNA topoisomerase type II의 대표적 억제제인 mAMSA와 prokaryotic type II 억제제로 알려진 norfloxacin이 *Mycoplasma hominis*에서 분리한 type II-topoisomerase의 활성에 미치는 영향을 조사하여, 사람에 감염성이 높은 원핵세포로 된 *Mycoplasma*속과 사람 DNA topoisomerase type II와의 관련성을 밝히기 위한 기초자료를 얻기 위하여 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

N-[4-(9-acridinylamino)-3-methoxyphenyl]methanesulphonanilide (mAMSA)와 norfloxacin은 Sigma 회사에서, Ultrogel AcA34는 Pharmacia LKB사에서, agarose는 Gibco-BRL사에서, PPLO broth는 Difco사에서, *Mycoplasma hominis, Mycoplasma fermentans, Mycoplasma penetrans, Mycoplasma pneumoniae, Ureaplasma urealyticum* 균주는 ATCC에서 분양 받았고 그 외의 일반적인 시약은 분석용을 사용하였다.

2. *Mycoplasma sp.*의 배양

*Mycoplasma hominis*는 0.2% arginine이 첨가된 Chanock's 배지에서, *Mycoplasma fermentans, Mycoplasma penetrans*와 *Mycoplasma pneumoniae*는 1% glucose가 첨가된 Chanock's 배지에서, *Ureaplasma urealyticum*은 0.04% urea와 0.01% cystein이 첨가된 Chanock's 배지에서 37°C에서 24시간 배양하였다.

3. *Mycoplasma sp.*에서 DNA topoisomerase의 분리

DNA topoisomerase의 분리 과정은 Matsrafi 등[14]의 방법을 일부 변형하였으며, Chanock's 배양액을 4°C에서 15,000 rpm으로 40분간 원심분리한 후 침전된 균을 TE(Tris-HCl 10mM, EDTA 1mM) buffer 1 ml로 부유시켰다. 그리고 같은 양인 buffer I (50 mM Tris-HCl pH 8.0, 0.1% NP-40, 50 mM β-mercaptoethanol) 1ml을 넣고 37°C에서 30분간 incubation한 후 원심분리(15,000 rpm, 1 hr, 4°C)하고, 침전물을 buffer II (0.25 M NaCl, 0.3 M Tris-HCl pH 8.0, 0.5 M DTT)로 부유시킨 후 15초간 2회 sonication하였다. 여기에 동량의 0.1% sodium deoxycholate를 넣고 4°C에서 1시간 incubation한 후 원심분리(15,000 rpm, 1 hr, 4°C)하여 상층액을 회수하여 topoisomerase의 활성을 측정하고, 부분 정제를 위해서는 nucleus 완충액으로 평형시킨 Ultrogel AcA34 column chromatography를 통하여 type II-topoisomerase 분획을 얻었다.

4. Topoisomerase의 이완 활성 측정법

Topoisomerase의 이완(relaxation) 활성은 Minford 등[15]의 방법으로 30 μg/ml의 bovine serum albumin이 포함된 반응 혼합액 (50 mM Tris-HCl: pH 7.5, 100 mM KCl, 10 mM $MgCl_2$, 0.5 mM dithiothreitol, 0.5 mM EGTA, 1 mM ATP) 과 400 ng의 pUC19 DNA, topoisomerase (또는 효소 분획)를 2 μl씩 넣고 37 ℃에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액에 5 μl의 5 % SDS를 넣고 반응을 정지하고 proteinase K(0.5 mg/ml)를 넣어 42 ℃에서 추가로 60분간 더 반응시킨 후 25 % Ficoll 400과 0.25 mg bromophenol blue/ml의 혼합액을 넣어 반응을 정지시켰으며, 반응 생성물은 TBE buffer (90 mM Tris borate, pH 8.3, 2.5 mM EDTA)를 전개용매로 하고 0.8 % agarose gel을 사용하여 4 V/cm로 전기영동을 실시하여 분석하였다.

5. 단백질 정량법

정제 과정 중에 얻어진 단백질의 농도는 Lowry등[16]의 방법에 따라 분석하였으며 표준 단백질로 bovine serum albumin을 사용하였다.

결 과

1. *Mycoplasma* 속의 균종에 따른 DNA topoisomerase의 realxation activity

*Mycoplasma sp.*를 배양하여 얻은 균 추출물에 대한

relaxation activity를 pUC 19 plasmid를 기질로 사용하여 측정한 결과 *Mycoplasma hominis*와 *Mycoplasma fermentans*에서 가장 높은 topoisomerase 활성을 나타내었으며, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma penetrans*, *Ureaplasma urealyticum*의 순으로 높게 나타났다(그림 1).

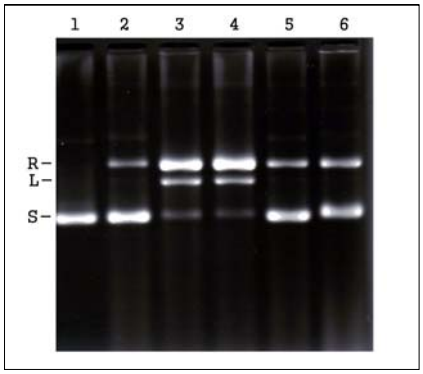

Fig. 1. Relaxation activity of DNA topoisomerase in *Mycoplasma sp*. The relaxation activity was analyzed by the agarose gel assay described in "Materials and Methods". The gel mobilities for the different DNA forms are indicated for each gel, where form S is supercoiled, form R is relaxed circular, form L is linear DNA. Each lane was used 400 ng of pUC19 DNA. Lane 1; pUC19 DNA + reaction buffer(with 10 mM Mg2+ and 1 mM ATP), lane 2; lane 1 + DNA topoisomerase from *Ureaplasma urealyticum*, lane 3; lane 1 + DNA topoisomerase from *Mycoplasma hominis*, lane 4; lane 1 + DNA topoisomerase from *Mycoplasma fermentans*, lane 5; lane 1 + DNA topoisomerase from *Mycoplasma penetrans*, lane 6; lane 1 + DNA topoisomerase from *Mycoplasma pneumoniae*.

2. *Mycoplasma hominis*로부터 topoisomerase 분획의 부분 정제

앞의 실험을 통해 topoisomerase의 활성이 높은 *Mycoplasma hominis*의 배양액으로부터 상기 실험 방법에 따라 균 추출물을 얻어 column chromatography를 실시하였다. 그림 2에서 보는 바와 같이 Ultrogel AcA34 gel filtration의 분획물을 pUC19을 기질로 사용하여 topoisomerase의 활성을 측정하였는데 분획 18번부터 26번 사이의 범위에서 효소 활성을 나타내었으며 특히 20번 분획에서 높은 활성을 관찰할 수 있었다.

3. ATP와 Mg^{2+}에 의한 영향 분석을 통한 Type II-topoisomerase 분획의 동정

가장 높은 활성을 나타내는 20번 분획에 대한 ATP와 Mg^{2+}의 영향을 조사한 결과(그림 3) 20번 분획은 효소 활성에 ATP와 Mg^{2+}을 요구하는 점으로 보아 전형적인 ㄱtype II- topoisomerase로 확인되었다.

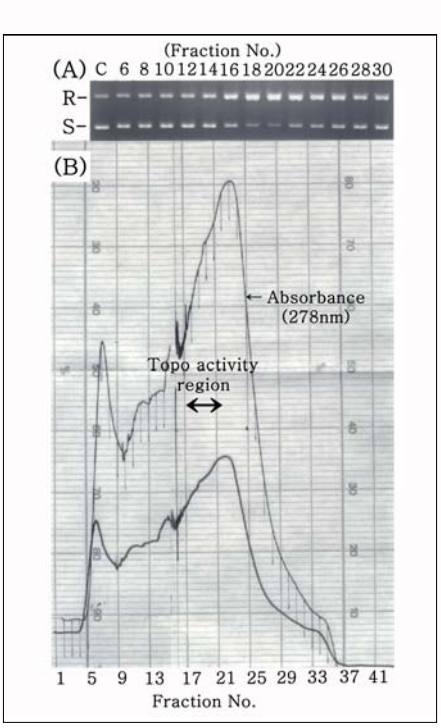

Fig. 2. Elution profile of type II-topoisomerase from *Mycoplasma hominis* on Ultrogel AcA 34 gel filtration. (A) Each fractions were determined the relaxation activity of type II-topoisomerase, (B) Absorbance at 278 nm in UV detector

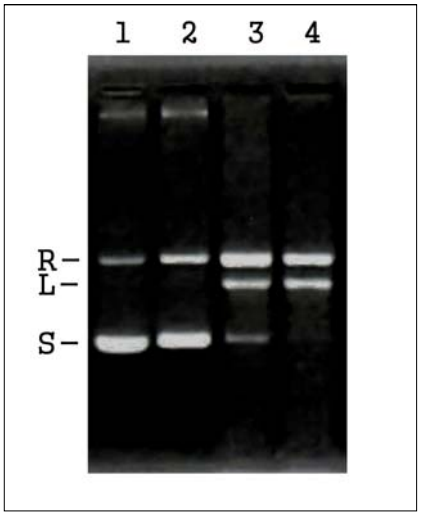

Fig. 3. Effect of Mg2+ and ATP on the relaxation activity of type II-topoisomerase in *Mycoplasma hominis*. Lane 1; pUC19 DNA only, lane 2; lane 1 + reaction buffer(without Mg2+ and with 1 mM ATP) + type II-topoisomerase, lane 3; lane 1 + reaction buffer(with 10 mM Mg2+ and with 1 mM ATP) + type II-topoisomerase, lane 4; lane 1 + reaction buffer(with 20 mM Mg2+ and with 1 mM ATP) + type II-topoisomerase.

4. mAMSA가 type II-topoisomerase의 활성에 미치는 영향

pUC19 DNA를 type II-topoisomerase의 기질로 사용하여 Type II-topoisomerase 분획의 단백질 농도에 따른 효소 활성을 측정한 결과 단백질 함량이 100 ng 되도록 첨가하였을 때 50%의 relaxation activity를 나타내었다(그림 4). 이와 같은 조건에서 topoisomerase의 relaxation activity에 mAMSA가 미치는 영향을 조사한 결과는 그림 5와 같다. 효소 반응 액에 mAMSA를 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 mM을 첨가하였을 경우 약물의 농도에 관계없이 비슷한 수준의 relaxation activity를 나타내었으나 약물의 농도가 증가함에 따라 linear DNA의 양이 증가하는 양상을 보였다.

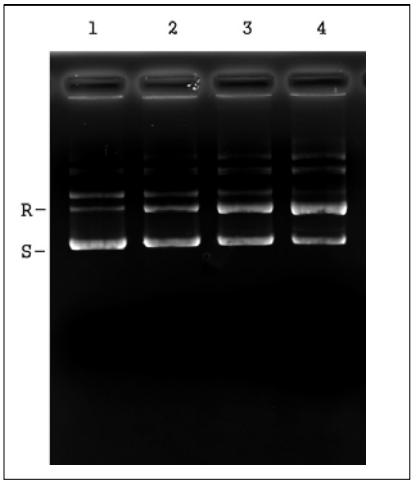

Fig. 4. Effect of various concentration of partially purified type II-topoisomerase on the relaxation activity. Lane 1; pUC19 DNA(400 ng) + reaction buffer(with 10 mM Mg2+ and 1 mM ATP), lane 2, 3, 4 ; lane 1 + 50 ng, 100 ng or 200 ng of type II-topoisomerase, respectively

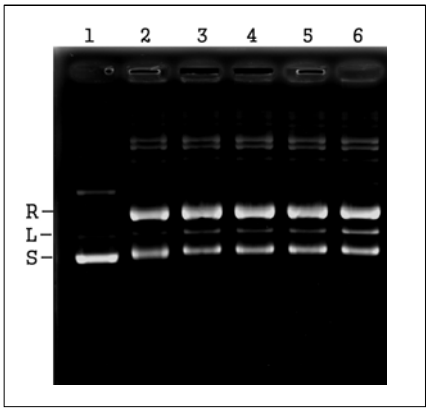

Fig. 5. Effect of mAMSA on the relaxation activity of type II-topoisomerase in *Mycoplasma hominis*. Lane 1; pUC19 DNA + reaction buffer(with 10 mM Mg2+ and 1 mM ATP), lane 2; lane 1 + type II-topoisomerase, lane 3, 4, 5, 6 ; lane 2 + 0.05 mM, 0.1 mM, 0.25 mM or 0.5 mM of mAMSA, respectively

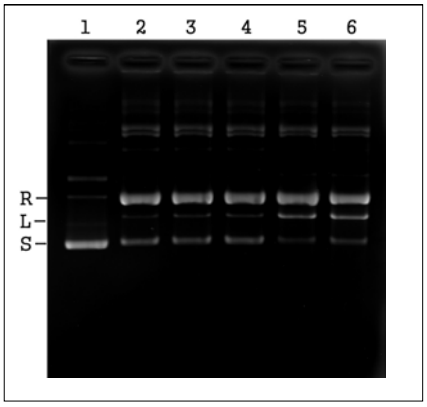

Fig. 6. Effect of norfloxacin on the relaxation activity of type II-topoisomerase in *Mycoplasma hominis*. Lane 1; pUC19 DNA + reaction buffer(with 10 mM Mg2+ and 1 mM ATP), lane 2; lane 1 + type II-topoisomerase, lane 3, 4, 5, 6 ; lane 2 + 0.05 mM, 0.1 mM, 0.25 mM or 0.5 mM of norfloxacin, respectively

5. Norfloxacin이 type II-topoisomerase의 활성에 미치는 영향

Norfloxacin에 의한 topoisomerase의 이완 활성 변화를 관찰한 결과는 그림 6과 같다. Norfloxacin을 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 mM을 각각 효소 반응 액에 첨가하였을 경우 약물의 농도가 증가함에 따라 relaxation activity와 linear DNA가 증가하는 양상을 나타내었다.

고 찰

Type II topoisomerase의 특징을 살펴보면 dimer로서 DNA 두 가닥을 동시에 절단하며 효소 dimer의 각 subunit는 DNA 5' 말단과 공유 결합하여 phosphotyrosine 결합을 형성한다.[7] 그리고 절단된 G(gate)-segment DNA는 같은 DNA 분자 또는 다른 DNA 분자의 T(transport)-segment를 통과시키고 재결합되며 linking number를 2개씩 변화시켜 원형 DNA의 초나선 상태를 변화시키는데,[17,18] 효소 촉매활성에 Mg^{2+}와 ATP 가수분해가 필수적이다.[19] 원생생물 type II 의 domain은 hetero 형 subunit를 가지고 있으나 진핵 세포의 type II 효소들은 homodimer형으로 되어 있다. 그리고 type IIA 효소들은 ATP 결합 domain, DNA 결합 및 절단작용 domain과 C-말단 domain으로 된 3개의 domain 구조를 가지고 있다.[8] DNA gyrase는 ATP 가수분해에 의해 negative supercoil을 생성하는데, *E. coli* DNA gyrase의 B subunit(GyrB)는 *E. coli* topoisomerase IV의 ParE subunit와 진핵세포 효소의

N-말단 일부와 비슷하며, C-말단 domain은 꼬리부분의 반 정도가 몇몇 종들과 유사한 배열을 하고 있다. GyrB는 c-말단 부위에 인접한 170개의 아미노산을 제외하고는 다른 종의 type IIA 효소들과 매우 높은 상동성을 가지지만 gyrase A subunit(GyrA)는 ParC subunit와 진핵세포 C-말단의 일부만 유사하다. 그리고 170개의 아미노산은 *in vivo*에서 활성을 나타내는데 필수적이며 활성부위인 tyrosine은 GyrA의 N-말단으로부터 약 120개의 아미노산 지점에 있으며, ATP 결합 부위는 GyrB의 N-말단으로부터 400개의 아미노산 영역에 존재한다.[20,-22)]

앞에서 언급한 바와 같이 DNA와 topoisomerase의 반응은 topoisomerase가 DNA의 phosphodiester bond를 절단하고 topoisomerase의 tyrosine기의 OH와 phosphodiester bond가 형성되어 효소와 DNA 사이에 공유결합한 "cleavable complex"를 이룬 후에 다시 끊어졌던 DNA 부위가 재 봉합되는 특징을 가지고 있다. topoisomerase는 DNA 초기 대사 과정에 중요한 역할을 담당하기 때문에 그 억제제는 세포독성과 함께 DNA cleavable complex를 안정화시킴으로서 항암제의 표적효소일 것이라 하여 임상적으로 그 중요성이 점차 증가되고 있다.[5)] 현재까지 발견된 대표적인 bacterial gyrase **저**해제로서 novobiocin, coumermycin A1, nalidixic acid 그리고 oxolinic acid 등이 있고, eukaryotic DNA topoisomerase II **저**해제로는 mAMSA, doxorubicin, actinomycin D, idaarubicin, daunorubicin, mitoxantrone, ellipticine, epipodophyllotoxin 계열의 VP-16과 VM-26, genistein등이 있는데, topoisomerase 억제제들의 작용 기전을 살펴보면 gyrase의 quinolone계의 억제제와 진핵세포 topoisomerase I, II의 억제제들은 topoisomerase 촉매반응의 phosphodiester bond 절단과정에는 영향을 주지 않고 그 후속 단계인 phosphodiester bond의 재 봉합을 방해한다. 즉 topoisomerase가 DNA의 phosphodiester bond를 끊고 DNA와 공유 결합한 촉매반응의 중간체를 " cleavable complex"라고 하는데, topoisomerase 억제제들은 이 cleavable complex를 안정화한다. 이러한 topoisomerase 억제제들의 작용에 의해 DNA 복제, 전사, 재 조합과 유사분열 과정에 영향을 미치게 되면 유전자 발현의 변화를 초래할 것이며, 특히 암 유전자 발현의 억제에 의해 항암활성을 가질 것으로 추정하고 있다.[7)]

본 연구에서는 *Mycoplasma* 속의 균종에 따른 DNA topoisomerase의 realxation activity 를 측정한 결과 균종에 따라 활성의 차이가 뚜렷하게 나타났는데, 이에 대해서는 topoisomerase의 반응 조건과 배양 조건, 배양 시간, 증식 상태에 대한 검토가 있어야 할 것으로 생각된다. *Mycoplasma hominis*의 배양액으로부터 균 추출물을 얻어 Ultrogel AcA34 gel filtration을 통해 얻어진 topoisomerase 활성 분획은 효소 활성에 ATP와 Mg^{2+}을 필수적으로 요구하는 점으로 보아 전형적인 type II-topoisomerase로 확인되었다. 또한 본 연구의 목적과는 관련이 없어 data는 제시하지 않았지만 Mg^{2+}을 요구하면서 ATP를 필요로 하지 않는 type I-topoisomerase로 여겨지는 새로운 분획을 확인하였다. 이는 Horowitz 등[12)]이 *Mycoplasma fermentans*와 *Mycoplasma pirum*에서의 relaxation activity 측정 실험에서 두 균주 모두 topoisomerase는 ATP를 요구하며, ATP를 요구하지 않는 효소는 발견되지 않았다고 한 연구 결과와 차이가 있으며, Forterre 등[13)]에 의하면 *Mycoplasma mobile*과 *Mycoplasma pneumoniae*의 topoisomerase는 DNA 염기배열 특성상 현재까지 topoisomerase IIA(topo IV)만 분류되고 있기 때문에 이에 대해서는 몇가지 *Mycoplasma*를 대상으로 추가적인 실험이 필요로 할 것으로 생각된다.

사람 type II-topoisomerase의 억제제인 mAMSA가 효소활성에 미치는 영향에 관한 실험에서 mAMSA의 농도에 관계없이 비슷한 relaxation activity를 나타내었으나 약물의 농도가 증가함에 따라 linear DNA의 양이 증가하였는데, 이는 진핵생물에서만 나타나는 topoisomerase의 억제제가 원핵생물인 *Mycoplasma*에 존재하는 type II-topoisomerase를 억제하는 양상을 나타내고 있다. 이러한 결과는 Horowitz 등[12)]의 실험에서도 전기영동 양상에는 차이가 있었으나 mAMSA의 억제 현상을 역시 확인할 수 있었다. 원핵생물의 type II-topoisomerase의 억제제인 norfloxacin이 relaxation activity에 미치는 영향에 관해서는 *Mycoplasma sp.*에 대한 알려진 연구 결과가 없어 비교는 할 수 없었지만 본 실험에서는 약물의 농도가 증가함에 따라 relaxation activity와 linear DNA가 증가하는 양상을 나타내었는데 이러한 연구 결과를 뒷받침하기 위해서는 앞으로 다른 원핵생물들과 비교 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 Ultrogel AcA34 column chromatography를 통하여 얻은 *Mycoplasma hominis*에서 부분 정제한

type II-topoisomerase 분획에 대한 ATP와 Mg의 영향과 사람 DNA topoisomerase type II의 대표적 억제제인 mAMSA와 prokaryotic type II 억제제로 알려진 norfloxacin이 topoisomerase 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, 사람에 감염성이 높은 원핵세포로 된 *Mycoplasma hominis*의 topoisomerase의 효소 반응 특성은 type IIA-세균성 DNA topoisomerase의 특성뿐만 아니라 type II-사람 DNA topoisomerase의 특성도 일부 가지고 있는 것으로 여겨지며, 앞으로 *Mycoplasma* 속 topoisomerase의 분류 체계를 확립하기위해서는 지속적인 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

1) Christman MF, Dietrich FS, Frink GR : Mitotic recombination in the rRNA of S.cerevisiae is suppressed by the combined action of topo I and II. Cell 55:413-425, 1988
2) Schomburg U, Grosse F : Purification and characterization of DNA topoisomerase II from calf thymus associated with polypeptides of 175 and 150 kDa. Eur J Biochem. 160(3): 451-457, 1986
3) Wang JC : DNA topoisomerases. Annu Rev Biochem. 54:665-697, 1985
4) Wang JC : Recent studies of DNA topoisomerases. Biochim Biophys Acta 909:1-9, 1987
5) Liu LF : DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs. Annu Rev Biochem. 58:351-375, 1989
6) Berger JM, Gamblin SJ, Harrison SC, Wang JC : Structure and mechanism of DNA topoisomerase II. Nature 379(6562): 225-232, 1996
7) Wang J, Medeiros J, Longo DL, Mansoor A, Raffeld M, Duffey PL, Jaffe ES, Stevenson MS : Use of the polymerase chain reaction technique to determine c-myc expression in follicular center cell lymphoma. Diagnostic Mol Pathol. 5(1):20-25, 1996
8) Champoux JJ : DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. Annu Rev Biochem. 70: 369-413, 2001
9) Pollack JD : Carbohydrate metabolism and energy conservation, In Maniloff J, McElhaney RN, Finch LR, Baseman JB (ed), Mycoplasmas : Molecular biology and pathogenesis. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1992, 181-200
10) Taylor-Robinson D, Munday PE : Mycoplasmal infection of the female genital tract and its complications, Edinburgh, United Kingdom, Churchill Livingstone, 1988, 228-247
11) Sielaff TD, Everett JE, Shumway SJ, Wahoff DC, Bolman III RM, Dunn DL : Mycoplasma hominis infections occurring in cardiovascular surgical patients. Ann Thorac Surg 61: 93-98, 1996
12) Horowitz S, Maor R, Priel E : Characterization of DNA topoisomerase activity in two strains of Mycoplasma fermentans and in Mycoplasma pirum. J. Bacteriol. 179(21); 6626-6632, 1997
13) Forterre P, Gribaldo S, Gadelle D, Serre MC : Origin and evolution of DNA topoisomerases. Biochimie 89: 427-446, 2007
14) Matsrafi L, Aflalo E, Blair DG, Priel E : Isolation of an 11-kDa protein associated with the topoisomerase I activity from equine infectious anemia virus. Biochem. Biophys. Res. Commun. 220(3): 1028-1035, 1996
15) Minford J, Pommier Y, Filipski J, Kohn KW, Kerrigan D, Mattern M, Michaels S, Schwartz R, Zwelling LA : Isolation of intercalator-dependent protein-linked DNA strand cleavage activity from cell nuclei and identification as topoisomerase II. Biochemistry 25(1):9-16, 1986
16) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ : Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 15:1-24, 1951
17) Brown PO, Peebles CL, Cozzarelli NR : A topoisomerase from Escherichia coli related to DNA gyrase. Proc Natl Acad Sci U S A. 76(12):6110-6119, 1979
18) Liu LF, Liu CC, Alberts BM : Type II DNA topoisomerases: enzymes that can unknot a topologically knotted DNA molecule via a reversible double-strand break. Cell. 19(3):697-707, 1980
19) Roca J, Wang JC : DNA transport by a type II DNA topoisomerase: evidence in favor of a two-gate mechanism. Cell. 77(4):609-616, 1994
20) Adachi N, Miyaike M, Kato S, Kanamaru R, Koyama H, Kikuchi A : Cellular distribution of mammalian DNA topoisomerase II is determined by its catalytically dispensable C-terminal domain. Nucleic Acids Res. 25(15):3135-3142, 1997
21) Mirski SE, Gerlach JH, Cole SP : Sequence determinants of nuclear localization in the alpha and beta isoforms of human topoisomerase II. Exp Cell Res. 251(2):329-339, 1999
22) Shaiu WL, Hu T, Hsieh TS : The hydrophilic, protease-sensitive terminal domains of eucaryotic DNA topoisomerases have essential intracellular functions. Pac Symp Biocomput. 578-589, 1999