

生理機能未知酵素 Ndx8 が関わる細胞増殖制御のメタボローム解析

大賀拓史<sup>1</sup>、大橋由明<sup>2,6</sup>、中川紀子<sup>1,3</sup>、増井良治<sup>1,3</sup>、曾我朋義<sup>2,6</sup>、  
富田勝<sup>2,6</sup>、横山茂之<sup>3,4,5</sup>、倉光成紀<sup>1,3</sup>

(<sup>1</sup> 阪大・院理、<sup>2</sup> 慶應大・先端生命研、<sup>3</sup> 理研・播磨研、  
<sup>4</sup> 理研・GSC、<sup>5</sup> 東大・院理、<sup>6</sup> ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ)

e-mail: o-ga@bio.sci.osaka-u.ac.jp

近年になって多くの生物種でゲノム情報が解き明かされるようになり、新規に発見されたタンパク質の機能をアミノ酸配列情報から予測することが可能になった。これまで実際に、多くの酵素タンパク質について保存されたモチーフやアミノ酸配列情報から触媒反応や基質分子が予想され、*in vitro* の実験でその検証がなされている。しかしこのような酵素の中には、確認された触媒活性が細胞内でどのような役割を担っているのかが明らかになっていない「生理機能未知」酵素が多く存在している。

Nudix タンパク質ファミリーは保存されたアミノ酸配列を共有する加水分解酵素ファミリーである。近年のゲノム解析の発展により、このタンパク質ファミリーがウィルスから人を含め、生物界に広く分布していることが明らかになってきた。Nudix タンパク質は特徴的なアミノ酸配列を持ついくつかのグループに分類され、それぞれがヌクレオシド二リン酸構造を持つ生体分子を基質として分解する。これらの基質の中には傷害塩基や代謝中間体などが含まれており、このことから Nudix タンパク質は細胞内から有害な低分子を取り除く「house-cleaning 酵素」であると考えられている。しかし、実際に細胞内でのそのような役割が証明されているのは DNA 突然変異の抑制に働く 8-oxo-dGTP 分解酵素 (MutT) のみであり、その他の基質を分解する Nudix タンパク質のほとんどは、細胞内での役割が明らかになっていない。我々は *Thermus thermophilus* HB8 のゲノムに存在する 8 つの Nudix タンパク質 (Ndx1~8) について、その生理機能を解明することを目指している。これまでに Ndx 1~8 の生化学的解析を行い、基質分子の同定および立体構造解析を中心とした反応様式の解明を行ってきた (表1、図1)。

表1 高度好熱菌由来 Nudix ファミリータンパク質の研究進捗状況

	大量発見	精製	基質の同定	結晶構造解析	遺伝子破壊解析
Ndx 1	●	●	A <sub>pp</sub> A	●	○
Ndx 2	●	●	ADP-ribose, FAD	●	○
Ndx 3	●	●	A <sub>pn</sub> A (n=4-6)	○	○
Ndx 4	●	●	ADP-ribose	●	○
Ndx 5	○				
Ndx 6	●	○	○		
Ndx 7	●	●	○	○	
Ndx 8	●	●	dGDP	○	●

●:完了

○:進行中

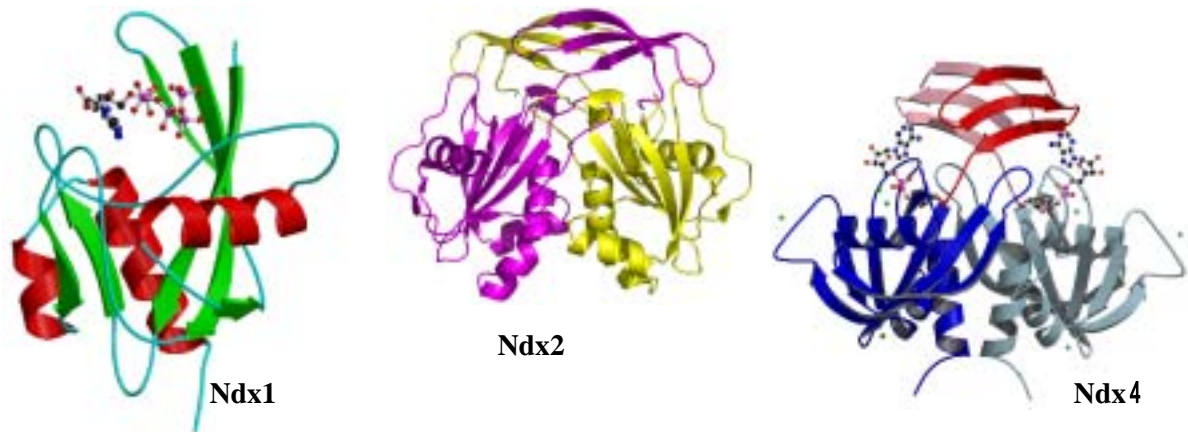


図1 Ndx タンパク質の結晶構造

各遺伝子破壊株の表現型解析を行った結果、*ndx8* 遺伝子破壊株 (*ndx8*<sup>-</sup>) では特定の栄養条件下で野生株と顕著に異なる表現型を確認することが出来た。富栄養条件下の増殖については野生株と *ndx8*<sup>-</sup> の間で表現型の違いは見られなかった。一方で飢餓条件下 (最少培地) の増殖では、*ndx8*<sup>-</sup> が対数増殖期に野生株では見られない菌体の凝集を生じることを確認した (図2)。これと同様の菌体の凝集は、野生株では定常期以降の増殖期後期で確認されている。このことから *ndx8*<sup>-</sup> では野生株より早い増殖期に増殖の抑制制御が起こっていると予想される。

このような抑制制御下では、*ndx8*<sup>-</sup> の細胞内代謝経路の多くが野生株と異なる挙動を示すと考えられる。具体的にどのような代謝経路が違っているかを確認することができれば、Ndx8 が関わっている細胞増殖制御機構の存在を証明し、その中で Ndx8 の触媒活性がどのような役割を持っているのかを説明することが出来る。現在、我々はこのような代謝経路を同定するために *ndx8*<sup>-</sup> の細胞内代謝低分子の網羅的な検出と定量 (メタボローム解析) を行っている。これまでの実験で結果から、*ndx8*<sup>-</sup> では野生株と比べて数種類のヌクレオチド代謝物が蓄積していることを確認している。

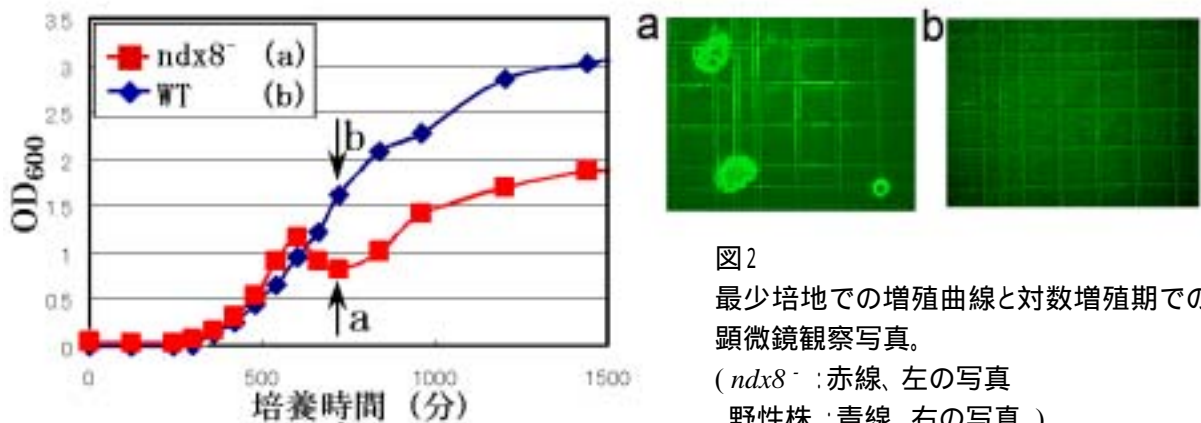


図2  
最少培地での増殖曲線と対数増殖期での顕微鏡観察写真。  
(*ndx8*<sup>-</sup> : 赤線、左の写真  
野生株 : 青線、右の写真)

#### Reference

- [1] Iwai T. *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **21**, 21732-221739
- [2] Yoshida S. *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 37163-37174
- [3] Ooga T. *et al.* (2005) *Biochemistry*, **44**, 9320-9329