

高度好熱菌由来 RecJ-like タンパク質の機能解析

Functional analysis of the RecJ-like protein from *Thermus thermophilus* HB8

若松泰介¹, 中川紀子^{2,3}, 増井良治^{2,3}, 倉光成紀^{1,2,3}

Taisuke Wakamatsu¹, Noriko Nakagawa^{2,3}, Ryoji Masui^{2,3}, Seiki Kuramitsu^{1,2,3}

(¹ 阪大院・生命機能, ² 阪大院・理・生物科学, ³ 理研・播磨/Spring-8)

(¹ Grad. Sch. Frontier. Biosci., ² Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Univ, ³ RIKEN Harima Inst/Spring-8.)

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

Thermus thermophilus HB8 由来 RecJ-like (ttRecJ-like) タンパク質は RecJ タンパク質 (単鎖 DNA に対する 5'-3' エキソヌクレアーゼ) がもつ DHH ドメインと, DHHA1 ドメイン (DHH associated ドメインであり, DHH subfamily 1 member タンパク質に特徴的な約 60 残基程の長さで保存された GG モチーフを含む) をもつ 324 残基の機能未知タンパク質である。RecJ タンパク質は、相同組み換え、塩基除去修復、ミスマッチ修復に関係することが報告されており、truncated ttRecJ タンパク質 (全 666 残基中の 40-463 残基) の立体構造も既に明らかになっている (図 1)。

pET11a/ttrecj-like を用いて BL21(DE3) を形質転換した後、IPTG による誘導を行い、ttRecJ-like タンパク質を大量発現させた。菌体破碎後、熱処理 (70°C)、陰イオン交換クロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーにより ttRecJ-like タンパク質を精製した。ゲルろ過クロマトグラフィーの結果より、ttRecJ-like タンパク質が溶液中では約 16 量体で存在する可能性が示された。また、CD スペクトルの結果より、85°C まで安定であることが分かった。ヌクレアーゼ活性を測定したところ、Mn²⁺ 存在下において単鎖 DNA に対して 5'-3' エキソヌクレアーゼ活性をもつことがわかった。現在、反応機構の予測のために構造機能解析を進行中であり、2.6 Å の native 結晶データを得ている。

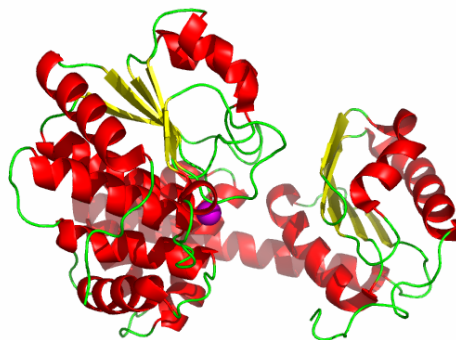


図 1 truncated ttRecJ の立体構造