

*Thermus thermophilus* HB8 タンパク質の機能発見研究:

3'-5' exonuclease TTHB178 の分子機能解析

Functional identification of protein from *T. thermophilus* HB8:

Molecular functional analysis of TTHB178

島田敦広<sup>1</sup>, 中川紀子<sup>1,2</sup>, 増井良治<sup>1,2</sup>, 倉光成紀<sup>1,2</sup>

Atsuhiko Shimada<sup>1</sup>, Noriko Nakagawa<sup>1,2</sup>, Ryoji Masui<sup>1,2</sup> and Seiki Kuramitsu<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 阪大院理・生物科学, <sup>2</sup> 理研・播磨研)

(<sup>1</sup>Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Osaka Univ., <sup>2</sup>RIKEN Harima Inst.)

e-mail: [a\\_shima@bio.sci.osaka-u.ac.jp](mailto:a_shima@bio.sci.osaka-u.ac.jp)

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 (*T. thermophilus* HB8) では、これまでに遺伝子修復系の酵素群について多くの研究解析が進められてきたが 3'-5' exonuclease は発見されていなかった。一本鎖 DNA (ssDNA) に特異的な exonuclease は、double-strand break (DSB) などの修復 (図 1) に関与するほか、相同組み換えの抑制や SOS 応答の制御にも関与している可能性がある。ssDNA 特異的な 3'-5' exonuclease には Exonuc\_X-T モチーフを持つものが知られているので、*T. thermophilus* HB8 のゲノム情報から、TTHB178 が 3'-5' exonuclease ではないかと推定した。原核生物の ssDNA 特異的な exonuclease は、N 末端側の Exonuc\_X-T モチーフと C 末端側の Exonuc\_X-T\_C モチーフを持つ (図 2)。しかし、*T. thermophilus* HB8 の TTHB178 は N 末端側の Exonuc\_X-T モチーフを有するのみであり、既存の exonuclease とは異なることが示唆された。

そこで、TTHB178 を pET system を用いて大腸菌で大量発現させ、精製した。TTHB178 の熱安定性を測定したところ、60°C まで安定であった。溶液中での TTHB178 の会合状態を調べるためゲル濾過を

行ったところ、これまでに知られている大腸菌の exonuclease (ExoI) などと同様に TTHB178 は単量体で存在することがわかった。ssDNA, 二本鎖 DNA, ssRNA に対する活性測定を行ったところ、ssDNA に対してのみ 3'-5' exonuclease 活性を示し、その活性発現には、Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> などの金属イオンが必要であった。

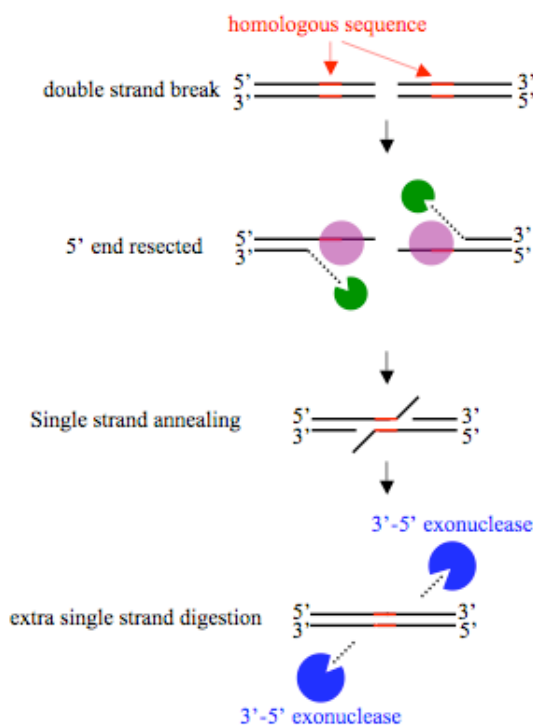


図 2. TTHB178 と ExoI の配列比較

図 1. DSB における 3'-5' exonuclease の働き