

*Thermus thermophilus* HB8 タンパク質の機能発見研究：  
機能未知タンパク質 Ndx8 の基質探索

Functional identification of protein from *T. thermophilus* HB8:  
The substrate search of Ndx8, unknown function protein

大賀拓史<sup>1</sup>, 大橋由明<sup>2,3</sup>, 増井良治<sup>1,4</sup>, 曾我朋義<sup>2,3</sup>, 富田勝<sup>2,3</sup>, 倉光成紀<sup>1,4</sup>  
Takushi Ooga<sup>1</sup>, Yoshiaki Ohashi<sup>2,3</sup>, Ryoji Masui<sup>1,4</sup>, Tomoyoshi Soga<sup>2,3</sup>, Masaru Tomita<sup>2,3</sup>, and  
Seiki Kuramitsu<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup>大阪大・理学研究科、<sup>2</sup>ヒューマンメタボロームテクノロジーズ株式会社、  
<sup>3</sup>慶應大・先端生命研、<sup>4</sup>理研・播磨研)

(<sup>1</sup>Osaka Univ., <sup>2</sup>Human Metabolome Technologies, Inc., <sup>3</sup>Keio Univ., <sup>4</sup>RIKEN Harima Inst.)  
e-mail: o-ga@bio.sci.osaka-u.ac.jp

Nudix タンパク質ファミリーは高度に保存された触媒モチーフを持つ加水分解酵素群であり、ウイルスから人まで、生物界に広く分布することが近年のゲノム解析の発展から明らかになってきた。Nudix タンパク質の基質の多くはヌクレオチド誘導体であり、その中には傷害塩基や代謝中間体、あるいは補酵素などの生体分子が含まれている。しかし、これまでに知られている基質の多くは *in vitro* の実験から発見されたものであり、それらの基質特異性が細胞内での“生理的な”ものであるかどうかは確認されていないケースがほとんどである。我々は細胞内代謝分子の網羅的解析を利用することで、nudix 遺伝子欠損株の細胞に蓄積するヌクレオチドを探索し、その中からこれまで知られていなかった Nudix タンパク質の基質を新たに発見することに成功した。

高度好熱菌のゲノムには 8 つの *nudix* 遺伝子 (*ndx1-8*) がコードされている。このうち、*ndx8* 遺伝子の欠損株 (*ndx8*<sup>-</sup>) は貧栄養培地での増殖時に、野生株と比べて早い生育段階で菌体の凝集を生じることを発見した (図 1)。DNA マイクロアレイを用いた解析を行った結果、*ndx8*<sup>-</sup> ではエネルギー代謝や翻訳装置の転写抑制など、細胞増殖が抑制される制御が起こっていることを確認した。*Ndx8* の酵素活性がこのような表現型にどう関わっているのかを検証するため、*ndx8*<sup>-</sup> の細胞内に蓄積している、“基質候補”となるヌクレオチド分子の探索を行った。CE-TOF/MS を用いて細胞内分子の網羅的検出・定量を行ったところ、*ndx8*<sup>-</sup> の細胞内に蓄積した数種類のヌクレオチド分子を検出することに成功した。この中から *in vitro* の系で *Ndx8* に分解されるものを調べた結果、これまでに Nudix タンパク質の基質として知られていなかった代謝分子が含まれていることが分かった。

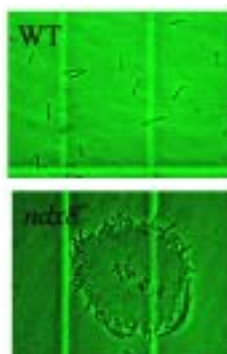
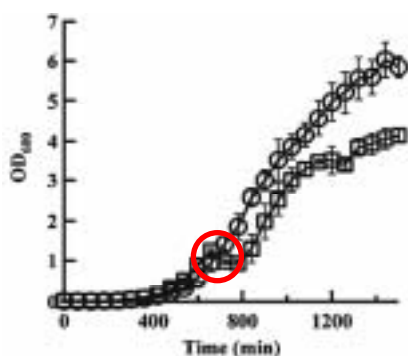


図 1

栄養飢餓条件下で生じる *ndx8*<sup>-</sup> の細胞凝集

貧栄養培地での野生株 (○) 及び *ndx8*<sup>-</sup> (□) の増殖曲線。右の写真は初期対数増殖期 (グラフの○) での顕微鏡観察写真 (倍率 x1000)。