

***Thermus thermophilus* HB8 タンパク質の機能発見研究:
β-CASP ファミリーに属する新規 RNase, TTHA0252 の構造機能解析
Functional identification of protein from *Thermus thermophilus* HB8:
Structural and functional analysis of TTHA0252, a novel RNase of the β-CASP family**

石川大仁¹, 中川紀子^{1,2}, 増井良治^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}

Hirohito Ishikawa¹, Noriko Nakagawa^{1,2}, Ryoji Masui^{1,2} and Seiki Kuramitsu^{1,2}

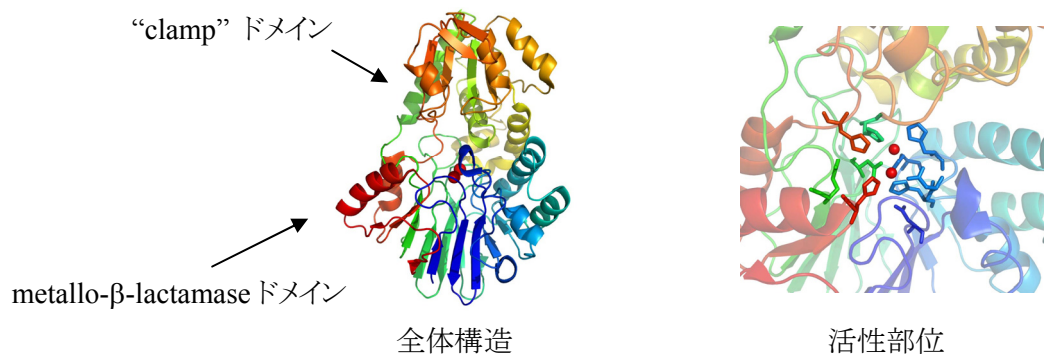
(¹ 阪大院理・生物, ² 理研・播磨研)

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

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

TTHA0252 は β-CASP ファミリーに属する hypothetical protein である。β-CASP ファミリーは metallo-β-lactamase スーパーファミリーのメンバーであり, 2002 年に発見された比較的新しいファミリーである。原型の metallo-β-lactamase は β-lactam 系の抗生物質を分解するが, β-CASP ファミリーのタンパク質は核酸を分解する。保存された配列により, β-CASP ファミリーのメンバーはさらに 2 つのグループに分けることができる。1 つのグループは生体内で DNA をターゲットとするが, もう 1 つのグループは RNA をターゲットとする。DNA 分解グループには, 性質が良く調べられたものが多数存在する。対照的に RNA 分解グループで性質が詳細に調べられたものはなく, わずかに, β-CASP ファミリーの RNA 分解グループが *E. coli* の RNase E の機能ホモログとして働いている可能性を示唆する報告がなされているだけである。RNase E は *E. coli* で mRNA の分解にかかわる重要な酵素であるが, 多くの原核生物でホモログが見つからない酵素である。この研究で私たちは RNA 分解グループに属する TTHA0252 の機能と構造を明らかにすることを目標とした。

TTHA0252 を大腸菌で大量発現し, 精製した。精製標品は 90°C まで安定で, 溶液中で単量体として存在し, 比色法と XAFS によって Zn²⁺ が結合していることが分かった。また, TTHA0252 は様々なオリゴヌクレオチドに対して, 5'-3' exonuclease 活性を示した。さらに我々は TTHA0252 の X 線結晶解析を行い, β-CASP ファミリーのタンパク質として初めての構造を 2.8 Å の分解能で解くことに成功した[1]。TTHA0252 は metallo-β-lactamase ドメインと “clamp” ドメインの 2 つのドメインからなっていた。活性部位は 2 つのドメインの間の溝にあり, 7 つの保存された残基が 2 個の Zn²⁺ に配位した構造をとっていた。この構造は他の β-lactamase と良く似ていたが, β-CASP ファミリー特有の残基の関与も明らかとなった。さらにそれらのアミノ酸の変異体解析を行ったので, それらの結果も報告する。



Reference

[1] Ishikawa H., Nakagawa N., Kuramitsu S. and Masui R. (2006) *J. Biochem.* **140**(4), 535-542