

真正細菌における dNTP triphosphohydrolase の多様性

The diversity of eubacterial dNTP triphosphohydrolase activity妻鹿良亮¹, 近藤直幸^{2,3}, 中川紀子^{3,4}, 倉光成紀^{1,3,4}, 増井良治^{3,4}Ryosuke Mega¹, Naoyuki Kondo^{2,3}, Noriko Nakagawa^{3,4}, Seiki Kuramitsu^{1,3,4}, Ryoji Masui^{3,4}(¹ 阪大・院生命機能, ² 東大・医科研, ³ 阪大・院理, ⁴ 理研・播磨研)(¹ Grad. Sch. Frontier Biosci., Univ. Osaka, ² Inst. Med. Sci., Univ. Tokyo,³ Grad. Sch. Sci., Univ. Osaka, ⁴ RIKEN Harima Inst.)e-mail: xmega@bio.sci.osaka-u.ac.jp

dNTP triphosphohydrolase (dNTPase) は dNTP をデオキシリボヌクレオシドと無機三リン酸に加水分解する非常にユニークな活性を持つ酵素である。この酵素は様々な生物種に幅広く保存され、特に真正細菌では高度に保存されている。このような DNA の合成に必要であるはずの dNTP を分解する酵素が存在することは非常に興味深い。そこで、われわれは dNTPase の分子機能および生理的意義を解明するため、*Thermus thermophilus* HB8 のもつ dNTPase (Tt-dNTPase) を用いて構造および機能についての詳細な解析を行ってきた。その結果、Tt-dNTPase は dATP と dTTP 両方の存在下でのみ、様々な dNTP に対して活性を発現することがわかり[1]、X 線結晶構造解析により Tt-dNTPase の構造が明らかになった(図 1)[2]。また、大腸菌にも dNTPase ホモログが存在し、dGTP に対して特異的な dGTPase 活性が確認されている (Ec-dGTPase)。さらに、興味深いことに *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 では dNTPase ホモログが 2 個保存されており (PA1124, PA3043)、Ec-dGTPase および Tt-dNTPase との配列相同性はそれぞれ、PA1124 が 45% および 25%、PA3043 が 29% および 38% と高く、Ec-dGTPase と Tt-dNTPase それぞれに近い活性を持つ酵素の両方が存在している可能性が示唆された。そこで、われわれはこの酵素ファミリーの活性の多様性ならびに共通性を検証するため、*P. aeruginosa* 由来の 2 つの dNTPase ホモログの性質を調べた。

まず、クローニングした各遺伝子を大量発現させた大腸菌から PA1124 および PA3043 の精製を行い、ゲル濾過により見かけの分子量を見積もったところ、PA1124, PA3043 はともに 6 量体であった。このように多量体構造を形成する点でこれらの酵素は Ec-dGTPase, Tt-dNTPase と共通していた。次にそれらの活性を調べたところ、PA1124 は dGTP に対して活性を示し、PA3043 は dGTP を含む様々な dNTP に対して活性を示した。また、どちらの酵素も Mg²⁺, Mn²⁺ 存在下で単独の dNTP を分解できることが示された。以上の結果から、同じファミリーに属する酵素でありながら、活性発現の機構や基質特異性がホモログ間で大きく異なることが明らかになった。このような相違点が生じる原因を解明するため、PA1124, PA3043 の X 線結晶解析を進めている。PA1124 では free の結晶が、PA3043 では dTTP complex の結晶が得られており、現在解析中である。

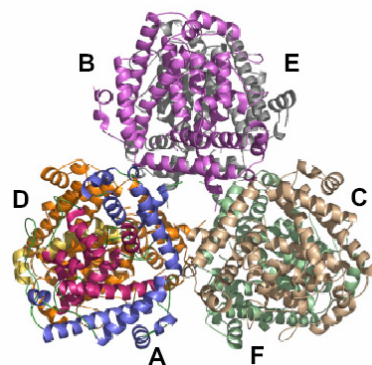


図 1. Tt-dNTPase の構造

References

[1] Kondo N. *et al.* (2004) *J. Biochem.* **136**, 221-31[2] Kondo N. *et al.* (2007) *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* **63**, 230-9