

## RecJ-like family I タンパク質の機能解析

## Biochemical characterization of RecJ-like family I proteins.

若松泰介<sup>1</sup>, 北村 吉章<sup>2</sup>, 中川紀子<sup>2,3</sup>, 増井良治<sup>2,3</sup>, 倉光成紀<sup>1,2,3</sup>Taisuke Wakamatsu<sup>1</sup>, Yoshiaki Kitamura<sup>2</sup>, Noriko Nakagawa<sup>2,3</sup>, Ryoji Masui<sup>2,3</sup>, and Seiki Kuramitsu<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup> 阪大・院生命機能, <sup>2</sup> 理研・播磨研, <sup>3</sup> 阪大・院理・生物学)<sup>1</sup> (Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ., <sup>2</sup> RIKEN Harima Inst., <sup>3</sup> Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)e-mail: [taisuke@bio.sci.osaka-u.ac.jp](mailto:taisuke@bio.sci.osaka-u.ac.jp)

RecJ は DNA 修復や相同組換えの際に働く一本鎖 DNA (ssDNA) 特異的な 5'-3' exonuclease であり, 我々は以前に高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来の RecJ (ttRecJ) のコアドメインの結晶構造を決定している。多くの生物には RecJ と同じ DHH phosphodiesterase ファミリー (RecJ-like ファミリー) に属するタンパク質が他にも多く存在し, poly(A) polymerase のように機能が知られているものもある。しかし, それら以外の多くのものについては生理学的な働きはほとんど分かっていない。そこで本研究では, 機能未知の RecJ-like ファミリータンパク質の機能解析を行った。まず高度好熱菌由来 TTHA0118 の活性測定を行った。TTHA0118 は RecJ と同じく金属イオン存在下で 5'-3' exonuclease 活性を持つが, 短い ssDNA や ssRNA に対してより高い活性を示し, pAp に対しても高い phosphatase 活性を示した。さらに TTHA0118 の遺伝子破壊株は最少培地での生育速度が低下したが, ヌクレオシドやヌクレオチドの添加により生育速度を回復した。また, 核酸前駆体を新規合成できない肺炎マイコプラズマ由来の RecJ-like ファミリータンパク質 Mpn140 も, 短い一本鎖の核酸に対して高い分解活性を示した。これらの結果から, TTHA0118 および Mpn140 は生体内で短い核酸を基質としており, ヌクレオチド生合成のサルベージ経路に関与していると考えられた。一方, ttRecJ ではそのような基質の長さ依存性は見られなかった。また, ttRecJ は ssDNA 結合タンパク質と直接相互作用することも示唆された。今回調べた 3 つのタンパク質はいずれも, RecJ-like ファミリーのうち, DHH モチーフと DHHA1 モチーフを持つファミリー I に属するが, ttRecJ は他の 2 つに比べて C 末端側が長い (図 1)。観測されたこれら 3 つの活性の違いを ttRecJ の結晶構造に基づいて考察した。

	Motif I		Motif II		Motif III	
consensus	XXUUXXXXX	DDOUXOXUXUXXUXXXX	XXXUUUUD	XXXXXXXXXXXX	XXUUUUD	DHHXXXX
TTHA0118	(27) IYIATHVDP	GDGDAIGSSLGLYRALKALG	(31) GATLVALD	SAEPSRVVGVVP	(2) GFVINI	DHHGTNP
Mpn140	(23) IVIFHHIRP	GDGCLGAQHGLARLIQTNF	(34) QALAVIVD	DANYKERIECRD	(7) KAVLRI	DHHPNED
YtqI	(14) IILHRHVRP	DDPDAYGSQCGLTEILRETY	(30) GALVIVCD	TANQERIDDDQR	(4) AKLMKI	DHHPNED
ttRecJ	(72) KRIRVHGDI	DADGLTGTAILVRGLAALG	(28) SDLFLTVD	CGITNHAELRE	(5) VEVIVT	DHHTPGK
EcRecJ	(71) TRIIVVGDF	DADGATSTALSVLAMRSLG	(30) AQLIVTVD	NGISSHAGVEH	(5) IPVIVT	DHHLPGD
	Motif IV		Motif V (RecJ-like family I specific motif)			
consensus	XXXXXXXXXXXXXXXXXXUUUXOUUXDXXXXUXXXX		XXXXXXXXXXXXXXXXGGHXXOOOUXUXXX			
TTHA0118	(18) VKDLIDLLG	VEWTAEIATPVLGTGILTD	TGNFRFANT	(100) GVSQNI	ALKLGG	GGHVPAAGATLKGL
Mpn140	(19) VVDLAVQAK	WKLSPPAATALYLGITYD	SNRFLYSNT	(102) GINVRE	VALKYGG	GGHIQASGAVLKSK
YtqI	(21) LYLEGKEH	GWKLNTKAAELIYAGIVGDT	TGRFLFPNT	(103) GPVING	LARKYNG	GGHPLASGASIYSW
ttRecJ	(29) LWALHERL	GLPPPLEYADLAAVGTIAD	VAPLWGWNR	(148) EALRSA	EDLLRLRY	GGHKEAAGFAMDEA
EcRecJ	(43) GWFDERNIA	IPNLAELLDLVALGTVAD	VVPLDANNR	(168) RLDTLY	PGMMLKFG	GGHAMAAGLSLEED

図 1. RecJ-like family I タンパク質の配列比較