

Thermus thermophilus HB8 由来 DNA ポリメラーゼ X の機能ドメイン解析
Functional domain analysis of DNA polymerase X from *Thermus thermophilus* HB8

中根修平¹, 中川紀子^{1,2}, 増井良治^{1,2} 倉光成紀^{1,2}

Shuhei Nakane¹, 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 SPring-8 Center, Harima Inst.)

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

DNA ポリメラーゼには A, B, C, D, X, Y, 逆転写酵素の 7 つのファミリーが存在し, X ファミリーに属する DNA ポリメラーゼ (PolX) は主に DNA 修復に関わっていることが真核生物では知られている。真核生物の PolX には X ファミリー共通のコアドメイン (POLXc ドメイン) のみからなるタイプ (Pol β) や, POLXc ドメインに加えて N 末端側に他のタンパク質との相互作用に必要な BRCT ドメインを持つタイプ (Pol λ , Pol μ) が存在し (図1), それぞれ塩基除去修復, DNA 二重鎖切断修復で働くことが明らかにされている。近年のゲノム解析の結果により, バクテリアにも PolX が存在することが判明したが, その詳細な活性や細胞における働きは不明である。バクテリアの PolX は POLXc ドメインに加えて, 真核生物の PolX にはない PHP ドメインを C 末端側に持つものが多数存在する (図1)。PHP ドメインにはホスホエステラーゼ活性があると推定されており, 実際にバクテリア PolX が, 真核生物 PolX が持たない 3'-5' エキソヌクレアーゼ活性を持っていたという報告があるが, この活性がどちらのドメインに由来するのかは明瞭でない。そこで本研究では, *T. thermophilus* HB8 由来の PolX (ttPolX) を用いて, 機能ドメインの同定を中心とした解析を行った。活性測定の結果, 全長の ttPolX には Mg²⁺ 依存性のポリメラーゼ活性と, Mn²⁺ 依存性の 3'-5' エキソヌクレアーゼ活性があることが分かった。次に, プロテアーゼによる限定分解の結果を元に, POLXc, PHP 各ドメインを発現, 精製した。POLXc ドメインは Mg²⁺ だけでなく Mn²⁺ にも依存したポリメラーゼ活性を持ち, 3'-5' エキソヌクレアーゼ活性は示さなかった。このことから, ポリメラーゼ活性は POLXc ドメインに由来するものであることが明らかになった。もう一つの活性である 3'-5' エキソヌクレアーゼ活性については, PHP ドメインの解析結果と合わせて報告する。

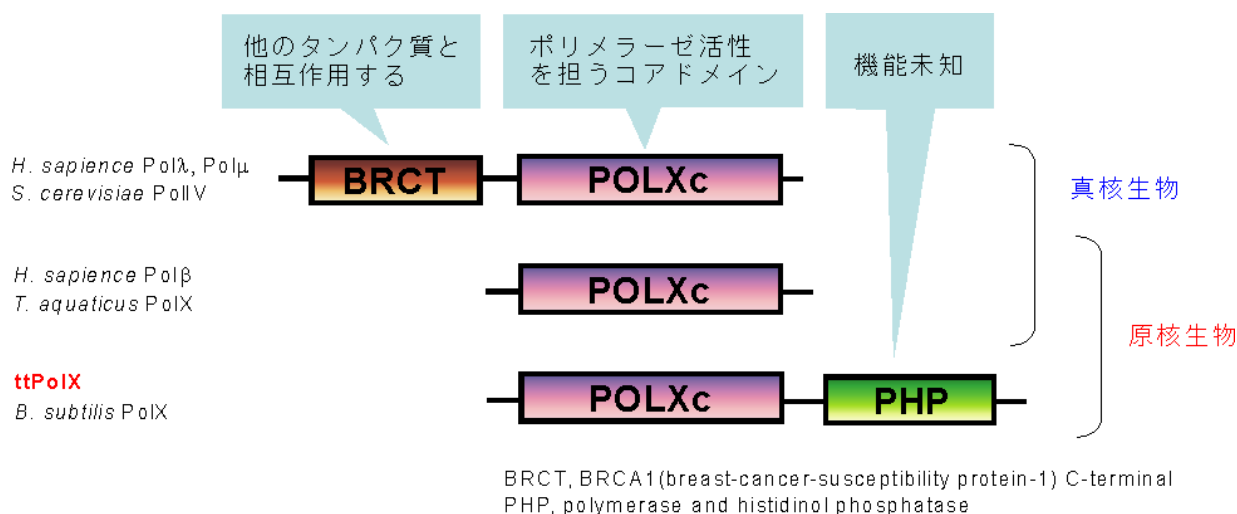


図 1. PolX のドメイン構造の比較