

***Thermus thermophilus* を用いた生物界に普遍的な新規 RNA 分解系の探求**
Research for a universal RNA degradation system using *Thermus thermophilus* HB8

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

RNA の分解とプロセッシングは全ての生物において必須であり、複数の RNase や RNA ヘリケースなどの酵素がその反応に関与している。大腸菌の系では、RNase E が mRNA の分解の最初のステップに必須であることが知られている。しかし、そのホモログは大腸菌近縁種の生物にのみ存在し、それ以外のほとんどの生物には存在しない。そこで我々は、生物界に普遍的な RNA 分解系のモデルを構築するため、その構成タンパク質が安定で立体構造解析や分子機能解析に適した *Thermus thermophilus* HB8 のゲノムを探索し、多くの生物種で保存されており、核酸代謝に関与する可能性が示唆されているタンパク質として β -CASP ファミリーに属する TTHA0252 と TTHA1140 を同定した (表 1)。 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、オーソドックスな metallo- β -lactamase が β -lactam 系の抗生物質を分解するのにに対し、核酸を基質とする。保存配列の違いにより、 β -CASP ファミリーは生体内で DNA を基質とするグループと RNA を基質とするグループに分けることができる。DNA 分解グループでは、ヒトの Artemis や Apollo などの酵素が知られている。Artemis は V(D)J 組み換えや非相同末端結合に働く酵素である。RNA 分解グループの真核生物では、pre-mRNA の 3' 末端の切断やポリアデニル化に関与する cleavage and polyadenylation specificity factor がよく研究されている。本研究ではまだほとんど研究が進んでいない原核生物における RNA 分解グループの機能を明らかにするため、まずは TTHA0252 の構造と機能を明らかにすることを目標とした。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、DNA よりも RNA を、2 本鎖の核酸よりも 1 本鎖をより効率的に分解した。この結果は TTHA0252 が RNA 分解経路で働く可能性を示唆している。すでに我々は 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立体構造を 2.8 Å 分解能で決定している (1)。TTHA0252 の活性部位は 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 Zn^{2+} に配位した構造をとっていた。ヌクレアーゼ活性の触媒機構におけるそれらのアミノ酸や Zn^{2+} の機能を推定するため、アミノ酸残基の変異体解析ならびに構造解析を行った。

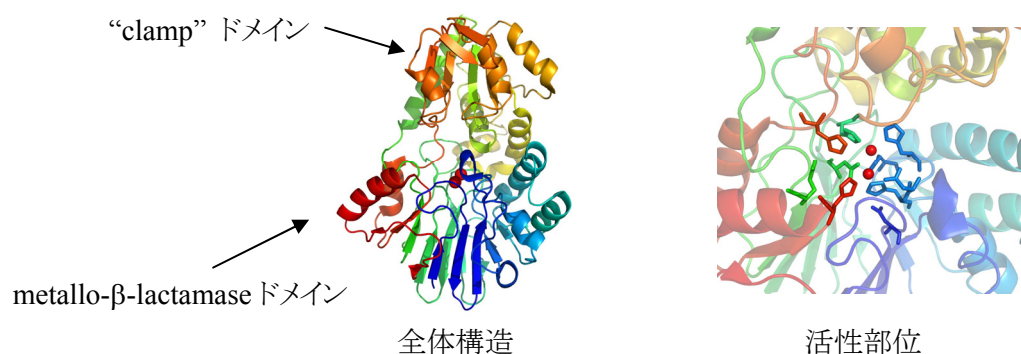


表 1. β -CASP ファミリー蛋白質と RNase E の分布

Prokaryotes		RNase E	β -CASP
Actinobacteria		×	○
Aquificae		×	○
Bacteroidetes/Chlorobi		×	△
Chlamydiae/Verrucomicrobia		×	×
Chloroflexi		×	○
Cyanobacteria		×	○
Deinococcus-Thermus		×	○
Fibrobacteres/Acidobacteria		×	○
Firmicutes		×	○
Fusobacteria		×	○
Nitrospirae		×	○
Planctomycetes		×	○
Proteobacteria	α	×	○
	β	○	×
	γ	○	×
	δ	×	○
	ε	×	○
Spirochaetes		×	×
Thermotogae		×	○
Archaea		RNase E	β -CASP
Euryarchaeota		×	○
Crenarchaeota		×	○
Eukaryotes		RNase E	β -CASP
Alveolata		×	○
Euglenozoa		×	○
Fungi/Metazoa group		×	○
Viridiplantae		×	○

○: ほぼ全ての生物種で保存されている。

△: 一部の生物種で保存されている。

×: ほぼ全ての生物種で保存されていない。

Reference

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