

RecJ 型エキソヌクレアーゼの構造機能解析

Structural and functional analysis of RecJ-type exonucleases

若松泰介¹, 北村吉章², 中川紀子^{1,2}, 増井良治^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}

Taisuke Wakamatsu¹, Yoshiaki Kitamura², Noriko Nakagawa^{1,2}, Ryoji Masui^{1,2}, and Seiki Kuramitsu^{1,2}

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

(¹ 阪大・院理・生物科学, ² 理研・播磨研)

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

全ての生物はゲノム情報維持のために、DNA の変異や傷害を修復する多くの DNA 修復システムを備えている。そのようなシステムにおいて、DNA エキソヌクレアーゼは重要な働きを行うことが知られる。原核生物で高度に保存される一本鎖 DNA 特異的 5'-3' エキソヌクレアーゼ RecJ は、ミスマッチ修復、塩基除去修復、相同組換えサブシステムで働くことが報告されている (図 1)。この RecJ について、これまでに高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 RecJ (ttRecJ, 666 残基) の触媒活性コアダメイン (cd-ttRecJ, 40-463 残基領域) の X 線結晶構造が決定されている (Yamagata *et al.* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 5908-5912)。cd-ttRecJ は長い α ヘリックスで繋がれた 2 つのドメインから成り、それらドメイン間に活性発現に必須な Mn^{2+} が結合していた。しかし、cd-ttRecJ は ttRecJ 全長と比べ K_m 値が約 540 倍も高く、RecJ の一本鎖 DNA に対する高い親和性の要因は未だに不明であった。そこで、本研究ではまず ttRecJ 全長の X 線結晶構造解析とドメイン解析を行い、RecJ の一本鎖 DNA に対する高い親和性の要因を明らかにした。

さらに、解明した ttRecJ の構造をもとに、機能未知とされていた RecJ 様蛋白質について機能を類推し、*in vitro* の解析により短い一本鎖核酸と pAp を分解することを明らかにした。そして、遺伝子破壊株を用いた *in vivo* の解析を行うことで、RecJ 様蛋白質がヌクレオチド生合成のサルベージ経路、ならびに pAp の濃度調節に働いていることを示した (図 2)。

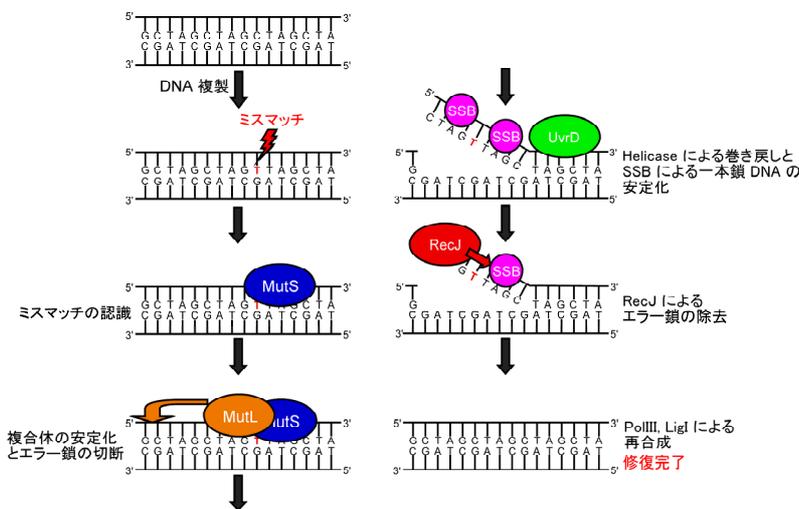


図 1. ミスマッチ修復サブシステムにおける RecJ の働き

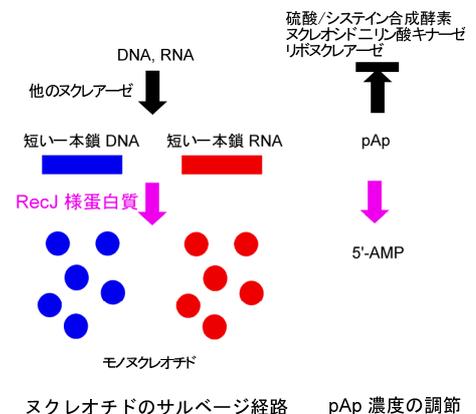


図 2. 明らかにした RecJ 様蛋白質の働き