

## 高度好熱菌由来 RecJ の機能解析

**Functional analysis of the RecJ protein from *Thermus thermophilus* HB8**小寺 祐太郎<sup>1</sup>, 若松 泰介<sup>1</sup>, 中川 紀子<sup>1,2</sup>, 増井 良治<sup>1,2</sup>, 倉光 成紀<sup>1,2</sup>

Yutaro Kotera, Taisuke Wakamatsu, Noriko Nakagawa, Seiki Kuramitsu, Ryoji Masui

( <sup>1</sup> 阪大・院理・生物科学, <sup>2</sup> 理研・播磨研)( <sup>1</sup> Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., <sup>2</sup> RIKEN SPring-8 center.)e-mail: [karatati@bio.sci.osaka-u.ac.jp](mailto:karatati@bio.sci.osaka-u.ac.jp)

DNA は紫外線などの外的要因、活性酸素などの内的要因により傷害を受ける。DNA の損傷は遺伝子の突然変異を引き起し、場合によっては生命を死に到らしめる。しかし、生体内にはそれを修復するため、塩基除去修復やミスマッチ修復、相同組換え修復といった DNA 修復機構が備わっている。それら修復系に関与している酵素の 1 つに RecJ タンパク質がある。RecJ は一本鎖 DNA 特異的な 5'-3' エキソヌクレアーゼ活性を有し、その活性発現には  $Mg^{2+}$  や  $Mn^{2+}$  などの 2 価の金属イオンを必要とする。RecJ ホモログは原核生物に広く分布し、よく保存された 5 つのモチーフが存在する。私たちは *Thermus thermophilus* HB8 由来 RecJ (ttRecJ) について、5 つのモチーフを含む truncated ttRecJ (40-463 残基) の立体構造をすでに明らかにしている (Figure 1)[1]。Truncated ttRecJ のドメイン間の溝に面した部位には  $Mn^{2+}$  が結合しており、ホモログ間で完全に保存されているアミノ酸残基がその配位に働いている (Figure 2)[1]。それらのアミノ酸残基が RecJ にとって重要であることは変異体解析によって示されているが、ヌクレアーゼ活性の反応機構においてどのような働きをしているかまでは明らかにされてない。また、*T. thermophilus* 内でどのような修復系で働いているかも不明である。そこで本研究では、ttRecJ の活性発現機構ならびに細胞内での機能について解析を行っている。

まず完全長の ttRecJ を大腸菌内で発現させて精製し、ゲルシフトアッセイを行ったところ、一本鎖 DNA にのみ結合した。また、ヌクレアーゼ活性の金属依存性を測定したところ、 $Mg^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Co^{2+}$  の存在下で活性が見られた。

今後、活性残基を他のアミノ酸へ置換した部位特異的変異体の作製を進め、活性測定を行う事で、各アミノ酸残基の働きやエキソヌクレアーゼの反応機構の解明を目指す。

QuickTimeX C<sup>2</sup>  
TIFFAIO a88KAJ eLIEE VEGE Oe8E8A  
C<sup>1</sup> \*C4C8AE8ENE EEC7a8@CECZC7C...COK6V-CIAB

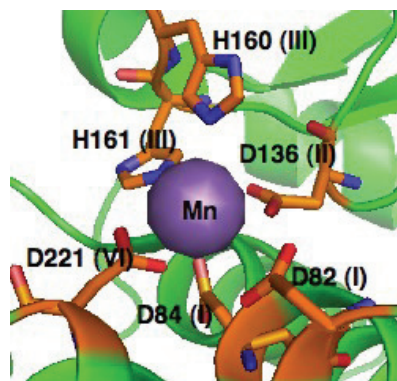


Figure 1. Truncated ttRecJ の立体構造

Figure 2.  $Mn^{2+}$  近傍の残基

## Reference

[1] Yamagata *et al.* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**. 5908-5912