

***Thermus thermophilus* HB8 Ndx3 protein is a diadenosine tetraphosphate (Ap4A) hydrolase that is a member of Nudix family**

高度好熱菌由来 Ndx3 蛋白質の機能解析

Takashi Nishikubo¹, Ryoji Masui^{1,2}, Seiki Kuramitsu^{1,2}

西久保喬¹, 増井良治^{1,2}, 倉光成紀^{1,2}

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

(¹阪大院理, ²播磨理研)

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

<目的>

Nudix蛋白質はヌクレオシドリン酸の誘導體 (**nucleoside diphosphate linked to another moiety, X**) を加水分解する酵素として知られており、生体内で過剰に作られた代謝産物や細胞にとって有毒な物質を分解することから “House-cleaning Enzyme” と呼ばれている。さらに最近の研究では、シグナル物質の細胞内濃度を制御しているのではないかと考えられている。*nudix*遺伝子は、ウィルスからヒトまで広く存在しており、ゲノム解析から、高度好熱菌には 8 つのNudix蛋白質がコードされていることが分かった。しかし、それらの基質や細胞内での役割は未知である。私は 8 つのNudix蛋白質の 1 つ、Ndx3 について機能解析を行っている。

<方法・結果・考察>

高度好熱菌のゲノムから *ndx3* 遺伝子をクローニングし、発現プラスミドを構築した。発現プラスミドで大腸菌を形質転換し、大量発現を試みたが、全く発現しなかった。そこで N 末端数残基のアミノ酸のコドンについて、GC 含量を減らすように最適化させたところ、大量発現させることに成功した。精製後、活性測定を行った結果、

Diadenosine tetraphosphate (Ap4A) を ATP と AMP

に分解する特異的な活性が見られた。又 Ap5A や

Ap6A も分解したが、Ap4A ほど高い活性は見られず、

分解パターンは複数通り見られた。Ap3A は全く分解

されなかった。

- Ap4A → ATP + AMP (1通りの分解パターン)
- Ap5A → ATP + ADP or p4A + AMP (2通りの分解パターン)
- Ap6A → ATP + ATP or p4A + ADP or p5A + AMP (3通りの分解パターン)

これら基質の分解パターンから Ndx3 は基質の 4 つのリン酸基部分を認識し結合し、認識したリン酸基部分の 3 番目と 4 番目のリン酸結合を切断しているのではないかと考えられる。

また Ndx3 が高度好熱菌細胞内で実際に発現しているかどうかを調べるため、抗体を作製し、ウェスタンブロットを行った。

その結果、Ndx3 は高度好熱菌細胞内で、対数増殖期に発現し、定常期にはほとんど発現しない蛋白質であることがわかった。このような発現パターンは、代謝系の蛋白質によく見られる傾向である。

Ap4A は生体内で代謝副産物として合成されるが、heat shock protein や kinase のインヒビターとして働くことが知られており、生体内で分解されずに蓄積すれば、これら蛋白質の機能を阻害する危険性があると考えられる。よって Ndx3 は細胞にとって危険な化合物を分解し、細胞内を浄化する役割を果たしているのだろう。

