

Biochemical characterization of Ndx2 protein, a member of Nudix family from *Thermus thermophilus* HB8

高度好熱菌由来 Nudix タンパク質 Ndx2 の機能解析

Taisuke Wakamatsu¹, Takushi Ooga², Noriko Nakagawa², Ryoji Masui^{2,3}, and Seiki Kuramitsu^{1,2,3}

若松泰介¹, 大賀拓史², 中川紀子², 増井良治^{2,3}, 倉光成紀^{1,2,3}

(¹Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ., ²Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., ³RIKEN Harima Inst.)

(¹ 阪大・院生命機能, ² 阪大・院理・生物科学, ³ 理研・播磨研)

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

Nudix タンパク質は “nudix box” という共通アミノ酸配列 (GX₅EX₇REUXEEXGU:U= I, L, V) を持つタンパク質ファミリーであり、ヌクレオシド二リン酸誘導体 (例:NTP, NpnN, NDP-sugar, NAD, CoA, etc.) を加水分解する酵素である。これらの基質は毒性を持っていたり、細胞シグナル分子や代謝中間体であったりするので、Nudix タンパク質の役割はこれらの濃度調節であると考えられている。*Thermus thermophilus* HB8 ではゲノム解析により 8 つの Nudix タンパク質の存在が確認されており、本研究では Ndx2 の機能解析を行った。

pET11a-*ndx2* を用いて BL21 (DE3) を形質転換した後、IPTG による誘導を行い、Ndx2 を大量発現させた。菌体破碎後、熱処理 (70°C)、陰イオン交換クロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーにより Ndx2 を精製した。ゲルろ過クロマトグラフィーの結果より、Ndx2 が溶液中では二量体で存在する可能性が示された。様々なヌクレオシド二リン酸誘導体に対する酵素活性を調べた結果、ADP-ribose や FAD を含む数種類で加水分解が見られた。ADP-ribose は AMP と D-ribose 5-phosphate に、FAD は AMP と FMN に、それぞれ分解された。また、その活性は Mg²⁺ イオンを必要とした。Ndx2 のこれらの性質は ADP-ribose pyrophosphatase サブファミリーの特徴に一致した。*T. thermophilus* HB8 では Ndx4 が高い活性を持つ ADP-ribose pyrophosphatase であることがすでに分かっている。しかし、Ndx2 と Ndx4 のアミノ酸配列には nudix box 以外に有意な配列相同性は確認されなかった。現在 Ndx2 の基質特異性とその加水分解機構の詳細を明らかにするために、結晶構造解析を進めている。

Reference

- 1) Iwai, T., *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 21732-21739
- 2) Yoshiba, S., *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.* (in press)