

タンパク質結晶構造解析ユーザーグループ

超好熱菌古細菌 *Pyrococcus horikoshii* OT3 由来新規一本鎖特異的エキソヌクレアーゼの結晶構造解析

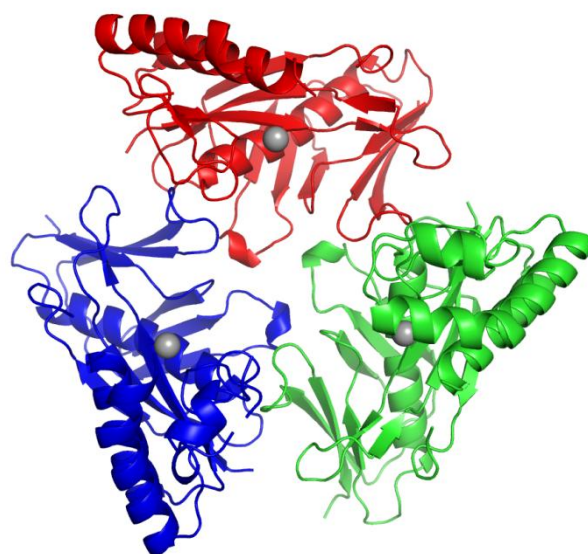
○宮園健一<sup>1</sup>、堤香苗<sup>1</sup>、石野良純<sup>2</sup>、田之倉優<sup>1</sup>

(1. 東京大学、2. 九州大学)

生物の遺伝情報はすべて DNA に記されているため、生物は厳密な制御のもとその複製、切断、除去を行っている。生物の有する DNA 分解酵素は大きく分けて、二本鎖 DNA を特異的に切断するもの、一本鎖 DNA を特異的に切断するもの、そのどちらも分解するものの3つに分類される。これらの DNA 分解酵素は生物学的に非常に重要なタンパク質であるだけでなく、その機能的な特徴から遺伝子工学の重要なツールとして広く用いられている。PhoDNaseI は、超好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* OT3 由来新規一本鎖 DNA 特異的 3'→5'エキソヌクレアーゼである。アミノ酸配列の解析から、このタンパク質は *Pyrococcus* 族及び *Thermococcus* 族に特徴的であることが示されており、類似の配列を有するタンパク質は他の生物では発見されていない。そのため PhoDNaseI は新規の立体構造及び機能的特長を有すると考えられる。また PhoDNaseI は、その特徴的な活性から DNA の複製機構に関与すると考えられ、上記古細菌に特徴的な DNA 複製メカニズムに関係すると推測されるが、その詳細な機能は未知である。そこで構造学的なアプローチによって PhoDNaseI の機能を解析するため、X 線結晶解析法により構造決定を行った。

今回我々は、KEK フォトンファクトリーのビームライン BL-5A 及び NW12 を利用して、多波長異常分散法により、PhoDNaseI の立体構造を 2.15 Å の分解能で決定することに成功した。構造解析の結果、PhoDNaseI は三量体を形成しており、各プロトマーに一つずつマグネシウムイオンの結合が確認できた。

(右図参照)。マグネシウム結合部位の立体構造は Ribonuclease H の活性部位の立体構造と比較的類似しており、PhoDNaseI もそのマグネシウム結合部位の周囲で DNA 切断を行うことが示唆された。また全体構造としては、そのアミノ酸配列から予測されたとおり既存のタンパク質立体構造とは異なる非常に新規性の高い構造を有することが明らかになった。



PhoDNaseI の全体構造  
Mg<sup>2+</sup>を灰色の球で示した。