

Desulfurococcus amylolyticus 由来 Flap endonuclease 1 の X 線結晶構造解析

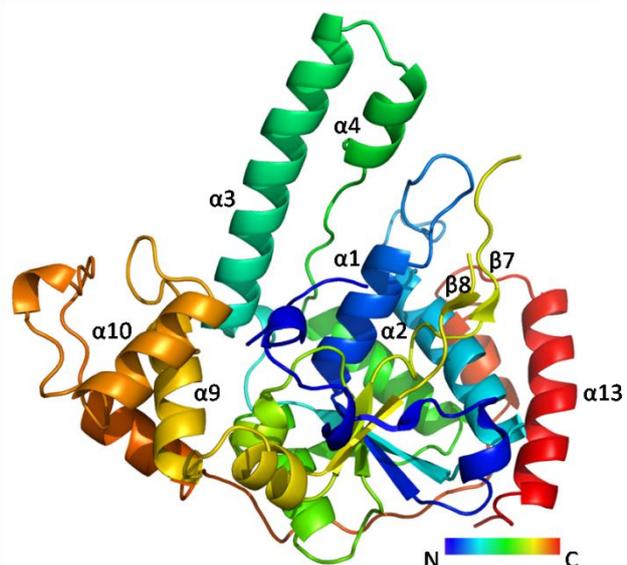
間瀬朋子¹、窪田恵子¹、宮園健一¹、河原林裕²、田之倉優¹
(1.東京大学、2.産業技術総合研究所)

Flap endonuclease 1 (以下 FEN1) は DNA の複製や塩基除去修復の過程において重要な役割を持つ酵素である。FEN1 は DNA の Flap 鎖を特異的に切断する活性を持ち、修復の過程で生じる flap DNA や翻訳の際に枝分かれした一本鎖 DNA を基質として認識し処理する。FEN1 の DNA に対する基質認識は塩基配列によらず構造特異的に起こる。

FEN1 は、バクテリオファージ T4 Rnase H やバクテリアの 5'ヌクレアーゼと同じ構造特異的な DNA を認識するヌクレアーゼファミリーに属する。これらのタンパク質の立体構造は多数報告されており、DNA 結合を仲介するアミノ酸残基は、真核生物や古細菌を問わず FEN1 ホモログの中で広く保存されていることが明らかにされている。しかしその DNA 認識・切断の機構の全様は未だ不明な点が多く、特に FEN1 の Double flap DNA 認識の構造基盤は未だ明らかにされていない。そこで我々は構造に基づく機能解明を目指すため *Desulfurococcus amylolyticus* 由来 FEN1 (*DaFEN1*) の X 線結晶構造解析を行った。

大腸菌を宿主とする大量発現系を用いて *DaFEN1* の発現・精製を行い、結晶化スクリーニングにより、Ammonium dihydrogen phosphate を沈殿剤とする条件で *DaFEN1* の良質な結晶を得た。得られた結晶を用いて大型放射光施設 Photon Factory BL5A で X 線回折データの収集を行い、2.00 Å の分解能のデータセットを取得し、*R* 因子 19.7%、*R*_{free} 22.4%まで精密化した *DaFEN1* の構造を得ることができた。*DaFEN1* は 13 個の α ヘリックスと 9 個の β シートからなる、図のような立体構造を有していた。

DaFEN1 の構造によると、種間で多様性が見られる部分は、高温条件下でも DNA を強固に保持するのに適した構造をとっており、宿主の生育環境を受けて構造が変化していることが示唆された。



DaFEN1 の全体構造