

制限酵素 EcoO109I の DNA 結合に関する構造研究

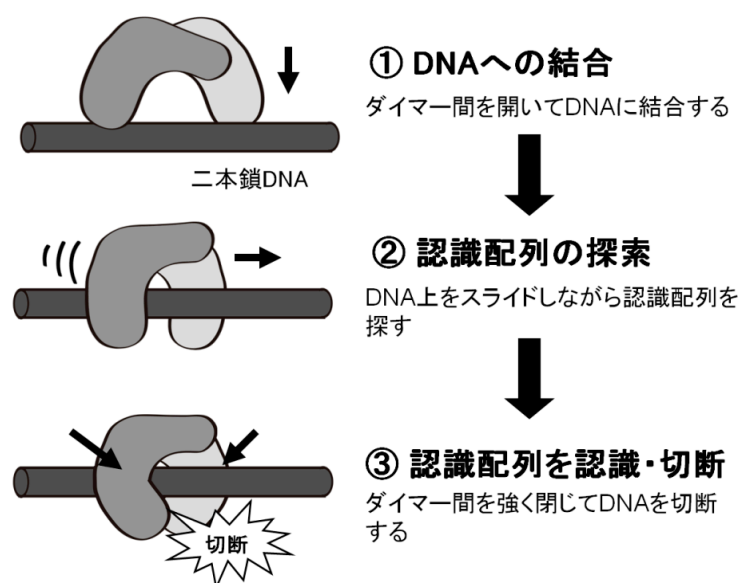
Structural basis of DNA-binding mechanism of restriction endonuclease EcoO109I

渡部みなみ¹、橋本博¹、喜多恵子²、清水敏之³、佐藤衛¹

1 横浜市立大学、2 京都大学、3 東京大学

制限酵素は、原生生物がファージなどの外来 DNA から自己を護るために機能する DNA エンドヌクレアーゼであり、特異的な DNA 配列を認識して特定の位置で 2 本鎖を切断する。なかでも II 型制限酵素は、遺伝子工学において最も重要な酵素のひとつとして広く知られている。

制限酵素 EcoO109I は、大腸菌 H709 株から単離された II 型制限酵素であり、アミノ酸 272 残基のポリペプチド鎖が 2 分子会合したホモダイマーとして機能している。認識 DNA 配列は RG/GNCCY (/は切断部位) であり、切断後は 5' 末端が突出した DNA を生成する。これまでに、EcoO109I 単体、塩基配列を認識した DNA 特異的複合体、塩基配列を認識していない DNA 非特異的複合体について結晶構造を明らかとした。これらの構造より、制限酵素の反応には、① DNA への結合、② 配列の探索、③ 配列の認識と切断の 3 段階があると考えている(下図)。しかし、EcoO109I が DNA と結合する際のメカニズムは未だ明らかとなっていない。



今回、EcoO109I に部位特異的変異(W130A)を導入することで、野生型と比べてダイマーの間が大きく開いた構造を明らかにすることに成功した。