

Functional identification of transcription factor from *Thermus thermophilus* HB8: Function of cAMP receptor protein (CRP)/ fumarate and nitrate reductase regulatory protein (FNR) homologs from *T. thermophilus* HB8

Thermus thermophilus HB8 株由来転写因子の機能発見研究 : cAMP receptor protein (CRP)/ fumarate and nitrate reductase regulatory protein (FNR)ホモログの機能

Akeo Shinkai, Yoshihiro Agari

○新海暁男、上利佳弘

(SR System Biology Research Group, RIKEN SPring-8 Center, Harima Inst.)

(理研播磨研 放射光システム生物学研究グループ)

e-mail: ashinkai@spring8.or.jp; y_agari@spring8.or.jp

RNAポリメラーゼ (RNAP) は、DNAの遺伝情報をmRNAに転写する反応を司る重要な酵素である。微生物由来のRNAPは、 $\alpha_2\beta\beta\omega$ サブユニットから成るコア酵素と、コア酵素に σ 因子が結合したホロ酵素の二つの形態で存在している。これらのうち、ホロ酵素のみが、プロモーターと呼ばれる、遺伝子上流に位置する特徴的な部分に結合し、転写を開始できる。転写がある程度進行すると σ 因子が遊離するが、転写反応はさらに進行し、ターミネーターと呼ばれる特徴的な部分で反応を終結させる。転写反応は、生育環境の変化に応じて、転写因子と呼ばれるタンパク質によって、正、或は、負に調節されている場合もある。転写は分子生物学のセントラルドグマの最初のステップなので、その詳細なメカニズムを解明すれば、生命現象の普遍性の一端を理解できることになる。2002年に、*T. thermophilus* HB8株由来のRNAPホロ酵素のX線結晶構造が明らかにされて以来、転写の構造生物学が急速に進展している。従って、本菌株は、転写のメカニズムを原子のレベルで解析するための格好のモデル生物と言える。

T. thermophilus HB8株には、およそ35種類の転写因子様タンパク質の遺伝子が見つかるが、それらの機能はほとんど明らかにされていない。我々は、それらの転写因子様タンパク質の機能を明らかにし、*T. thermophilus* HB8株による転写調節の全貌を明らかにすることを目的として研究を進めている。

CRP/FNR ファミリータンパク質は多くの微生物が有するグローバルな転写因子であり、それぞれの細菌で様々な役割を担っている。CRP/FNR ファミリータンパク質のサブファミリーの一つである CRP タンパク質は、cAMP と結合して活性型の複合体を形成する。大腸菌の CRP (ecCRP) は CRP タンパク質のプロトタイプとして長年研究されてきた。ecCRP は、一つのサブユニットが 209 aa から成るホモ二量体で、一つのサブユニットに対して一分子の cAMP が結合する。ecCRP-cAMP 複合体は、プロモーター近傍に存在する、22 bp から成る回文様配列 (コンセンサス配列 ; AAATGTGATCTAGATCACATTT) に結合し、多くの場合 RNAP のプロモーターへの結合を促進することによって、転写を促進する。

Thermus thermophilus HB8 株のゲノムには、CRP/FNR ホモログをコードする四つの ORF ; TTHA1437, TTHA1359, TTHA1567, TTHB099 が存在する。我々は、TTHA1437 タンパク質 (*T. thermophilus* CRP) が cAMP に結合して転写を促進する因子であることを見だし、*T. thermophilus* CRP に依存して機能するプロモーターを六つ同定した¹。それらのプロモーターの支配下にある

遺伝子の機能は明らかにされていないが、遺伝子配列或いはアミノ酸配列の特徴から、外来 DNA に対する防御装置と推測されている clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)-associated (Cas) タンパク質群、転写因子様タンパク質、exonuclease III 様タンパク質、GCN5-related acetyltransferase ホモログタンパク質、及び、*Thermus* に特有の機能未知タンパクと推定できた¹。

TTHA1359 タンパク質は、アミノ酸配列上、*T. thermophilus* CRP に約 43%類似している。TTHA1359 タンパク質の X 線結晶構造を 1.5 Å 分解能で決定した結果、本タンパク質の構造は、cAMP と結合していないにも関わらず、DNA 結合型である *E. coli* CRP-cAMP 複合体の構造と類似していた (r.m.s.d. = 2.3 Å)。現在、DNA 結合実験、遺伝子破壊株における mRNA 発現解析、及び、*in vitro* 転写実験により、本タンパク質の機能解析を行っている。

<参考文献>

1. Akeo Shinkai, Satoshi Kira, Noriko Nakagawa, Aiko Kashihara, Seiki Kuramitsu, and Shigeyuki Yokoyama (2007) Transcription activation mediated by cAMP receptor protein from *Thermus thermophilus* HB8. *J. Bacteriol.*, **189**, 3891-3901.