

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 株由来転写因子の機能発見研究Functional identification of transcription factors from *Thermus thermophilus* HB8

新海暁男

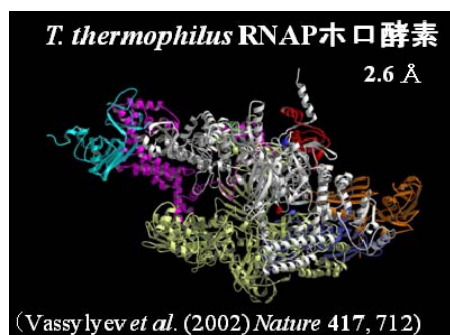
Akeo Shinkai

(理研 播磨研 放射光科学総合研究センター)

(RIKEN SPring-8 Center, Harima Inst.)

e-mail: ashinkai@spring8.or.jp

転写システムは、DNA の遺伝情報が mRNA に読み取られる反応であり、分子生物学のセントラルドグマの最初のステップに相当する。この反応は、



全生物に共通して RNA ポリメラーゼ (RNAP) によって司られている。細菌由来の RNAP は、 $\alpha_2\beta'\omega$ 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して σ 因子が遊離した

後は、コア酵素が転写反応を司り、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 (図1)。転写は、環境の変化や外部の刺激に応答する際に、各種の σ 因子や、転写因子と呼ばれるタンパク質因子によって正あるいは負に調節されている。我々の研究課題は、分子生物学的、及び、構造生物学的手法を用いた機能未知転写因子の機能発見研究を通し、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 株における転写制御ネットワークシステムの全貌を明らかにすることである。*T. thermophilus* HB8 株のゲノムは約 2.1 Mbp と比較的小さく (大腸菌の半分程度)、さらに、 σ 因子は σ^A と σ^E の 2 種類 (大腸菌では σ^{70} 、 σ^N 、 σ^F 、 σ^S 、 σ^E 、 σ^H 、 σ^{FecI} の 7 種類)、転写因子の数は推定 60~70 種類 (大腸菌では約 400 種類) と比較的小さい (表 1)。さらに、*T. thermophilus* HB8 株は進化の起源に近いと考えられていることから、本研究により、基本的な転写調節機構が明らかになると考えている。本研究結果は、転写制御

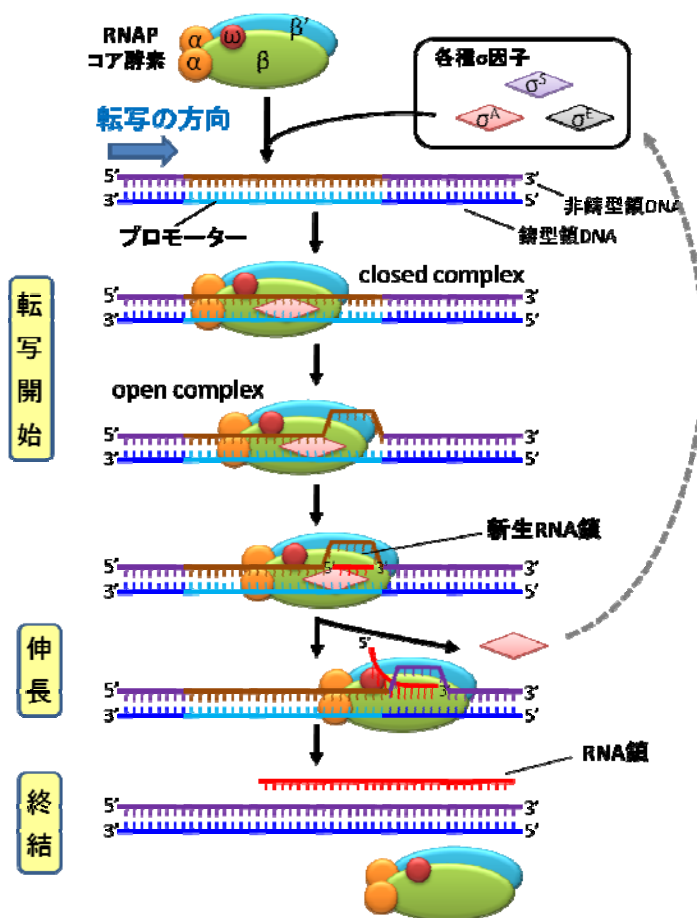


図1. 細菌における転写反応

の実態を細胞レベルで解析するイメージング解析のための基礎データにもなり得る。各転写因子に調節されている遺伝子群を全て解明すれば、*T. thermophilus* HB8 株由来の推定約 500 種類の機能未知遺伝子の機能を発見する手がかりを得ることができ、システム生物学の発展にも貢献できると考えている。

今回は、数多くの遺伝子を調節するグローバル転写因子として注目している CRP/FNR ファミリータンパク質の一つである SdrP の機能解析の結果を上利から(要旨 no. 67 参照)報告し、*T. thermophilus* HB8 株が持つ唯一のオルタナティブ σ 因子、 σ^E と、その活性を阻害する anti- σ^E 因子の機能解析の結果を坂本から報告する(要旨 no. 68 参照)。

References

Shinkai A., Kira S., Nakagawa N., Kashihara A., Kuramitsu S., and Yokoyama S. (2007) Transcription activation mediated by a cyclic AMP receptor protein from *Thermus thermophilus* HB8. *J. Bacteriol.* 189, 3891-3901.

Shinkai A., Ohbayashi N., Terada T., Shirouzu M., Kuramitsu S., and Yokoyama S. (2007) Identification of promoters recognized by RNA polymerase- σ^E holoenzyme from *Thermus thermophilus* HB8. *J. Bacteriol.* 189, 8758-8764.

Agari Y., Kashihara A., Yokoyama S., Kuramitsu S., and Shinkai A. (2008) Global gene expression mediated by *Thermus thermophilus* SdrP, a CRP/FNR family transcriptional regulator. *Mol. Microbiol.*, in press. (doi:10.1111/j.1365-2958.2008.06388.x)

Sakamoto K., Agari Y., Yokoyama S., Kuramitsu S., and Shinkai A. Functional identification of an anti- σ^E factor from *Thermus thermophilus* HB8. *Gene*, in press. (doi:10.1016/j.gene.2008.07.012)

Agari Y., Yokoyama S., Kuramitsu S., and Shinkai A. X-ray crystal structure of a CRISPR-associated protein, Cse2, from *Thermus thermophilus* HB8. *Proteins*, in press. (doi:10.1002/prot.22224)

表 1. *T. thermophilus* HB8 株由来 σ 因子、転写因子、及び、転写因子様タンパク質

遺伝子名	タンパク質名 (推定も含む)	立体構造 (黄色はホモログ)		標的遺伝子	備考	参考文献
		PDB ID	アミノ酸配列の相同性 (identity) (%)			
TTHA0020	response regulator	1YS7	43.89			
TTHA0057	nitrogen regulatory protein P-II	1VFJ				Sakai <i>et al.</i> (2005) <i>J. Struct. Biol.</i> 149 , 99-110.
TTHA0058	transcriptional repressor of class I heat-shock genes	1STZ	29.97			
TTHA0101	transcriptional repressor, TetR family	3CCY	24.74			
TTHA0123	transcriptional regulator, LysR family	1I6A	33.82			
TTHA0143	phosphate transport system regulatory protein PhoU	1T8B	44.29			
TTHA0145	phosphate regulon transcriptional regulatory protein PhoB	2OQR	42.17			
TTHA0167	transcriptional regulator (TetR/AcrR family)	1VIO	26.97			
TTHA0168	hypothetical protein (transcriptional regulator ?)	2EYQ	28.57			
TTHA0186	probable transcriptional regulator	2H9B	36.33			
TTHA0225	biotin operon repressor/biotin-[acetyl-CoA-carboxylase] synthetase	2CGH	37.71			
TTHA0248	transcription antitermination protein NusG	1N28			溶液構造(NMR)	Reay <i>et al.</i> (2004) <i>Proteins</i> 56 , 40-51.
TTHA0255	ferric uptake regulatory protein	2FE3	35.07			
TTHA0344	ferric uptake regulatory protein	2FE3	32.79			
TTHA0455	rrf2 family protein, transcriptional regulator	1ICH	24.64			
TTHA0483	probable transcriptional regulator, ArsR family	2GLU	41.3			
TTHA0507	transcriptional regulator	1MKM	31.45			
TTHA0508	transcriptional regulator, MerR family	2ZHH	30.34			
TTHA0532	RNA polymerase σ^A factor	1IW7		housekeeping genes	RNAPホロ酵素の構造。	Vassilyev <i>et al.</i> (2002) <i>Nature</i> 417 , 712-719.
TTHA0622	transcription elongation factor GreA	2F23	40.65		単独でDNA結合しない。(RNAPIに結合)	Symersky <i>et al.</i> (2006) <i>J. Biol. Chem.</i> 281 , 1309-1312.
TTHA0655	probable transcriptional regulator	2P4W	34.03		SdrP(TTHA1359)が転写を調節。	
TTHA0689	putative xylose repressor [C-terminal] (Mlc)	2QM1	29.8	TTHA0689-0688-0687-0686	グルコースと結合	Chevanec <i>et al.</i> (2006) <i>J. Bacteriol.</i> 188 , 6561-6541.
TTHA0701	N utilization substance protein A (NusA)	1L2F	45.82			
TTHA0705	transcriptional repressor SmtB	1SMT	48.11			
TTHA0733	transcriptional regulator MarR family	1S3J	31.5			
TTHA0754	transcriptional repressor	1U8R	37.89			
TTHA0783	PyrR bifunctional protein [pyrimidine operon regulatory protein/uracil phosphoribosyltransferase]	1UFR				
TTHA0807	transcriptional regulator	2HOA				
TTHA0814	putative response regulator	2OQR	42.74			
TTHA0889	transcription-repair coupling factor	2EYQ	48.83			
TTHA0973	transcriptional regulator, TetR family	3DCF	34.97			
TTHA0995	response regulator	1YS7	43.33			
TTHA1002	response regulator	1KGS	36.82			
TTHA1030	response regulator	1RNL	35.35			
TTHA1042	anti-cleavage anti-GreA transcription factor Ghf1	2EUL			単独でDNA結合しない。(RNAPIに結合)	Perederina <i>et al.</i> (2006) <i>Acta</i> F62 , 44-46; Symersky <i>et al.</i> (2006) <i>J. Biol. Chem.</i> 281 , 1309-1312.
TTHA1065	transcription termination factor Rho	1XPU	52.81			
TTHA1142	response regulator receiver domain protein	2A9R	35.04			
TTHA1155	mercuric resistance operon regulatory protein (MerR)	1Q07	29.82			
TTHA1184	putative response regulator	1ZH4	29.76			
TTHA1352	response regulator	3C3W	37.56			
TTHA1359	transcriptional regulator, FNR/CRP family (SdrP)	2ZCW		TTHA0337, TTHA0425, TTHA0570, TTHA0634-0635-0636-0637-0638, TTHA0654-0655, TTHA0769-0770, TTHA0986, TTHA1028	培養定常期に発現。栄養源の補給、酸化還元調節に関与している遺伝子等の発現を正に調節。	Agari <i>et al.</i> <i>Mol. Microbiol.</i> in press.
TTHA1362	response regulator	1YS7	41.7			
TTHA1437	transcription regulator, Crp family (CRP)	2PQQ	36.88	TTHA0176, TTHA0771, TTHB147-148-149-150-151-152, TTHB156-157-158-159, TTHB178, TTHB186-187-188-189-190-191-192-193-194	cAMPと結合し活性化。CRISPR-associated protein等、DNA/RNAの代謝に関与している遺伝子の発現を正に調節。	Shinkai <i>et al.</i> (2007) <i>J. Bacteriol.</i> 189 , 3891-3901.
TTHA1502	response regulator	1YS7	44.98			
TTHA1559	arginine repressor/activator	1B4A	46.31	TTHA1199-1198-1197-1196, TTHA1914	apo体は三量体、arg結合体は六量体。	Fujikawa <i>et al.</i> (2006) <i>Microbiology</i> 152 , 3585-3594. (HB27株)
TTHA1567	transcriptional regulatory protein	2ZCW	34.36			
TTHA1580	transcriptional regulator, GntR family	3DBW	30.85			
TTHA1657	Rex (redox sensing repressor)	2DT5				Nakamura <i>et al.</i> (2007) <i>Proteins</i> 66 , 755-759; Sickmier <i>et al.</i> (2005) <i>Structure</i> 13 , 43-54. (Tag)
TTHA1719	copper homeostasis operon regulatory protein	2HH7	41.98			
TTHA1722	putative response regulator	2GWR	46.22			
TTHA1726	S-layer repressor (SlrA)	2CN3	24.47	TTHA1893 (S-layer protein precursor (P100 protein))		Fernandez-Herrero <i>et al.</i> (1997) <i>Mol. Microbiol.</i> 24 , 61-72.
TTHA1766	S-layer-like protein (activator) (SlpM)	2R7F	42.31	TTHA1893 (S-layer protein precursor (P100 protein))		Fernandez-Herrero <i>et al.</i> (1997) <i>Mol. Microbiol.</i> 24 , 61-72.
TTHA1876	probable repressor, phenylacetic acid catabolic pathway	1VHK	32.5			
TTHA1946	beta-lactamase regulatory protein (MazG)	3CRC	42.95			
TTHB023	transcriptional regulator, TetR family	3DCF	29.89			
TTHB073	transcriptional regulator	1MKM	35.22			
TTHB081	transcriptional regulator, lacI family	1QQB	34.14			
TTHB099	transcriptional regulator, Crp family	2ZDB				
TTHB100	transcriptional regulator, MerR family	2JML	42.47			
TTHB130	putative transcriptional regulator	3CUO	31.11			
TTHB136	probable transcriptional regulator, CopG family	1XM3	30.43			
TTHB173	response regulator	1ZH4	39.47			
TTHB186	putative transcriptional regulator	1SRY	32.18		CRP(TTHA1437)が転写を調節。	
TTHB211	RNA polymerase σ^E factor	2Z2S	34.97	TTHB210, TTHB211-212, TTHB213-214		Shinkai <i>et al.</i> (2007) <i>J. Bacteriol.</i> 189 , 8758-8764.
TTHB212	anti- σ^E factor	2CW5	27.27	なし	σ^E に結合し、転写活性を阻害。	Sakamoto <i>et al.</i> <i>Gene</i> , in press.
TTHB248	transcriptional regulator, lclR family	1MKM	31.17			
TTHY7032	probable transcriptional regulator	1BON	25.47			
TTHY7033	probable transcriptional regulator	2HSG	28.57			
TTHY7035	xylose repressor	1Z05	24.39			