

ファージ感染における *Thermus thermophilus* CRISPR システムの発現プロファイル解析
 Transcription profile of *Thermus thermophilus* CRISPR system after phage infection

○上利佳弘、坂本恵子、新海暁男

○Yoshihiro Agari, Keiko Sakamoto, 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: y_agari@spring8.or.jp

バクテリオファージは、細菌に感染すると、宿主のシステムを利用して増殖する。これに対して、細菌は様々な防御機構を発達させてきた。Clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) システムは、細菌における、ファージなどの侵入 DNA に対する防御システムの一つであり、真正細菌の 40%に、古細菌の 90%に見いだされている。本システムは、パンドローム様配列(リピート)が、ある一定の間隔(スペーサー)で繰り返し存在するDNA領域;CRISPR (図1) と、CRISPRの近傍に存在する CRISPR-associated (*cas*) 遺伝子群から成る。CRISPR スペーサー配列が侵入 DNA 配列の一部である場合、細菌はその DNA に対して耐性を示す¹ (図2)。現在提唱されているモデルによると、CRISPR 部分は、転写された後、ある Cas 蛋白質によってリピート部分で分解され、1 単位のスペーサー配列を持つ crRNA が生じる。crRNA が侵入 DNA に結合し、それを別の Cas 蛋白質が認識し DNA を切断する。さらに、CRISPR 領域に新たなスペーサー配列が挿入されるサブシステムもある。すなわち、本システムは真核生物における RNAi システムに類似していると考えられている^{2,3}。

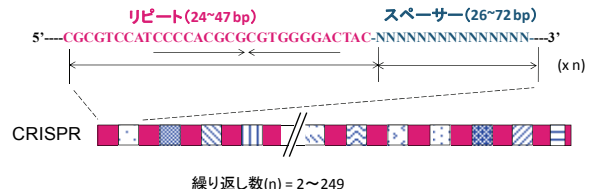


図1 CRISPR の構造

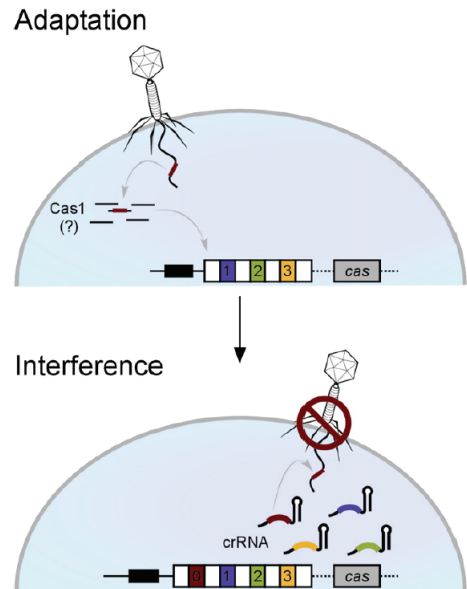


図2 CRISPR 免疫機構の予想モデル
 (Marraffini, L. and Sontheimer, E. (2009) *Structure*, 6, 786)

高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 株は、遺伝子数が 2,200 個と比較的少ないため、全ての生命に共通して必要な、より基本的な遺伝子セットが進化の過程で濃縮されていると考えられており、さらに、本菌株由来の多くの蛋白質は安定性が高いため、構造・機能解析を行うためのモデル生物として適している。ゲノム解析の結果か

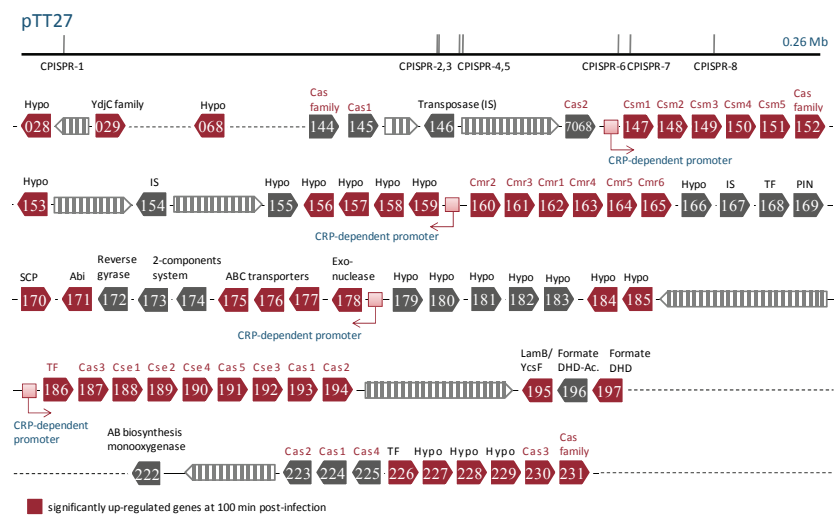


図3 *T. thermophilus* HB8 株の CRISPR および *cas* 遺伝子群

ら、本菌株には、8 箇所の CRISPR と、29 種類の *cas* 遺伝子群が見つかった (図 3)。興味深いことに、本菌株の *cas* 遺伝子群および近傍の機能未知遺伝子群のうち 20 個の遺伝子が cAMP 受容蛋白質 (CRP) による転写調節を受けている⁴。

細胞は、環境の変化や外部の刺激に応答する際に、転写因子と呼ばれるタンパク質を介して転写の調節を行っている。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に相当するため、その詳細なメカニズムの解明は、あらゆる生物に共通する普遍的な生命現象の理解に貢献できると考えられる。そこで、本菌株の CRISPR システムの転写制御機構を解明するために、本菌株の野生株および *crp* 遺伝子破壊株のそれぞれについて、 ϕ YS40 フェージ感染後の mRNA の発現の変動を DNA マイクロアレイを用いて解析した (図 4)。ポスターでは、遺伝子レベルの発現解析に加え、CRISPR を含む遺伝子間領域のプロンプレベルデータの解析結果についても報告する。

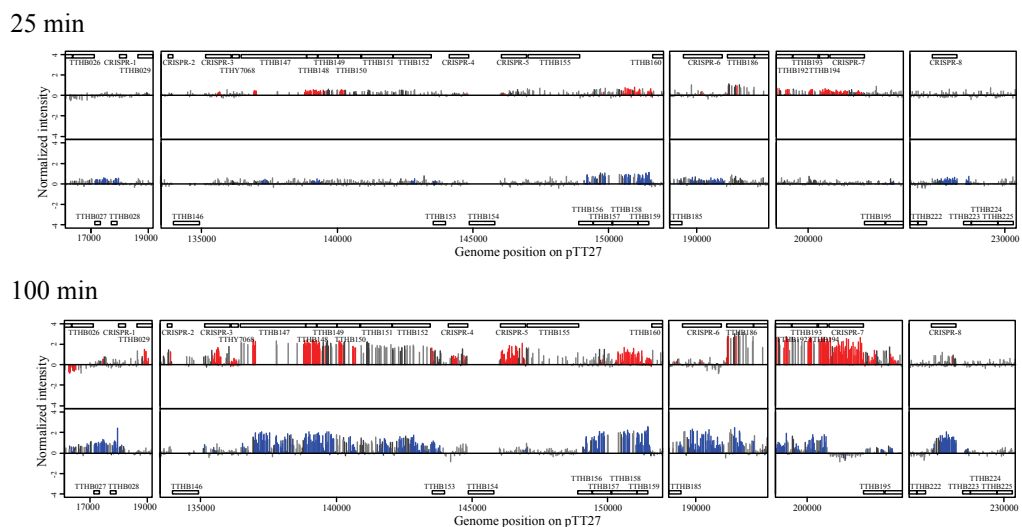


図 4 CRISPR 周辺の ϕ YS40 感染後の発現量の変動 (野生株)

Reference

- [1] Marraffini, L. and Sontheimer, E. (2009) *Structure*, **6**, 786-8
- [2] Barrangou *et al.* (2007) *Science* **315**, 1709;
- [3] Brouns *et al.* (2008) *Science* **321**, 960
- [4] Shinkai *et al.* (2007) *J. Bacteriol.* **189**, 3891-901