

Cold shock protein の転写産物調節システムに関わる機能の解析

**Functional analysis of cold shock proteins involved in transcript regulation system**妻鹿良亮<sup>1</sup>, 新海暁男<sup>2</sup>, 中川紀子<sup>2,3</sup>, 増井良治<sup>2,3</sup>, 倉光成紀<sup>1,2,3</sup>Ryosuke MEGA<sup>1</sup>, Akeo SHINKAI<sup>3</sup>, Noriko NAKAGAWA<sup>2,3</sup>, Ryoji MASUI<sup>2,3</sup>,  
Seiki KURAMITSU<sup>1,2,3</sup><sup>(1</sup> 阪大・院生命機能, <sup>2</sup> 理研・播磨研, <sup>3</sup> 阪大・院理・生物科学)<sup>(1</sup>Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ., <sup>2</sup>RIKEN SPring-8 Center, <sup>3</sup>Dept. Biol. Sci., Grad.  
Sch. Sci., Osaka Univ.)e-mail: [xmega@bio.sci.osaka-u.ac.jp](mailto:xmega@bio.sci.osaka-u.ac.jp)

生物には様々な環境の変化 (栄養枯渇、低温、高温、高塩など) に適応するシステムが存在する。低温適応もその一つであり、生物に普遍的に存在する。近年、地球温暖化に伴う気候変動の拡大により、冷害の発生率が上昇するという予測もされており、このような状況下でも農業生産等を維持するためには、生物に備わった低温に対する適応能力を格段に高めるような技術が必要になってきている。低温適応システムの解明はこれらの近い将来直面する問題を解決するためには不可欠であり、近年、注目を集めている。一般に、細胞が低温環境下に置かれると、酵素活性の低下、mRNA の二次構造の安定化、細胞膜の流動性の低下、翻訳の阻害といった影響を受けることが知られている。このような環境下で発現レベルが上昇するタンパク質が複数種類存在することが知られており、それらは cold inducible protein (CIP) と呼ばれる (図1)。その一つとして *Escherichia coli* 由来の cold shock protein A (CspA) が同定された。この CspA のホモログはヒトを含めた真核生物にまで広く分布しており、特にバクテリアでは、*E. coli* で 9 種類、*Bacillus subtilis* で 3 種類と、1 つの生物種に複数種類のホモログが確認されている (図2)。これらは共通して RNP1, RNP2 という 2 つの RNA 結合モチーフを持ち、CSP family として分類されている。CSP family タンパク質は総じて RNA および DNA に結合することが知られているが、細胞内での詳細な機能については未だに不明な点が多い。また、相同なアミノ酸配列をもつにもかかわらず、個々の CSP family タンパク質の発現のタイミングは異なっており、低温条件下で発現レベルが上昇するものだけでなく、常時発現レベルが一定なものもある。このことはそれぞれの Csp の生体内での役割が異なっていることを示唆しており、低温環境下だけでなく、通常の生育条件下でも細胞内で重要な役割を果たしていると考えられる。また、これまでの分子機能研究から、Csp は合成された mRNA の二次構造形成を阻害する RNA chaperone として働き、転写非終結を促進し、オペロンを組む遺伝子群の転写促進に寄与している可能性を示唆する報告もされている。以上のような先行研究から、図3に示すような RNA polymerase によって転写された mRNA が Csp に捕捉されてリボソームに受け渡すという mRNA の二次構造解離～翻訳開始までのシステムの存在が提唱されているが、Csp の mRNA の制御メカニズムについては未だに不明な点が多い。また、低温条件下で

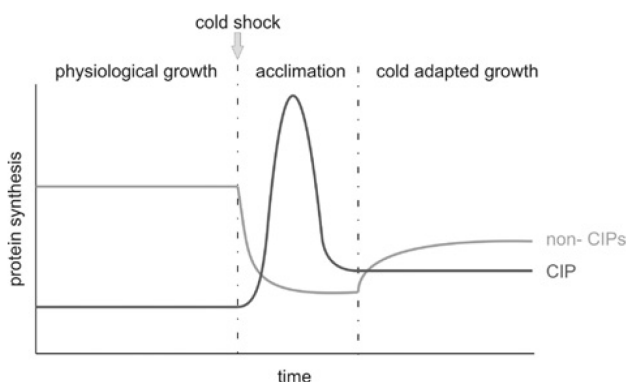


図1. Cold inducible protein (CIP) の発現パターン。  
Horn G. et al. (2007) *Cell. Mol. Life Sci.* **64**, 1457-1470

発現する Csp が細胞の低温適応に直接関与するという明確な証拠も得られていない。

そこで、このような Csp が関わる低温適応システムの分子メカニズムの解明を目指し、*Thermus thermophilus* HB8 に存在する TTHA0175 (ttCSP1) と TTHA0359 (ttCSP2) の 2 種類の Csp に注目して研究を行っている。*T. thermophilus* HB8 の遺伝子数は *E. coli* や *B. subtilis* などのモデル生物よりも少なく、生物の中でも最少の部類に入るので、最も単純な低温適応システムを持っていると考えられる。そこで、本研究では精製タンパク質を用いた分子機能解析と遺伝子破壊株を用いた遺伝子発現解析を行い、ttCSP1 と ttCSP2 の *in vitro* および *in vivo* の両面からその機能について調べた。

今回の発表では、DNA (RNA) 結合実験により得られた ttCSP の塩基認識の特異性と遺伝子発現解析の結果得られた cold shock によってもたらされる遺伝子発現パターンの変化を野生株および破壊株で調べた結果について報告し、ttCSP の分子機能から、どのような遺伝子の転写調節に関わっているかを考察する。

	RNP1	RNP2
ttCsp1	1 MQ---KGRVKWFNAEKGYGFIERE-GDTPVVFVHYTA	AINAKG----FRTLNEGDIVTFDVEPGRNGKGPQAVNVTVVEPARR--
ttCsp2	1 MN---KGVKWFNAEKGYGFIQEE-EGPDVVFVHFAIEADG	----FRTLSEGERVEFEVEPGRNGKGPQARRVRL-----
ecCspA	1 MSGKMTGIVKWFNADKGFGLIIPDDGSKDVFVHFSAIQNDG	----YKSLDEGQKVSFTIESGA--KGPAAGNVTSL-----
ecCspB	1 MSNKMTGLVKWFNADKGFGLIIPVDGSKDVFVHFSAIQNDN	----YRTLFEQKQVTFVSIESGA--KGPAAANVITD-----
ecCspC	1 MA-KIKGQVKWFNESKGFGLIIPADGSKDVFVHFSAIQNG	----FKTLAEGQNVFEIQDQD--KGPAAVNVTAI-----
ecCspD	1 ME---KGTVKWFNNAKGFGLIQPEGGGEDIFAHYSTIQMDG	----YRTLKAGQSVQFVHVHQGP--KGNHASVIVPVEVEAAVA
ecCspE	1 MS-KIKGNVWFNESKGFGLIIPEDGSKDVFVHFSAIQNTG	----FKTLAEGQRVEFEITNGA--KGPAAANVIAL-----
ecCspF	1 MSRKMTGIVKTFDGRKSGKGLIIPSDGRIDVQLHVSALNLRD	----AEEITTLRVEFCRINGL--RGPSAANVYLS-----
ecCspG	1 MSNKMTGLVKWFNADKGFGLIIPDDGSKDVFVHFSAIQNS	----FRTLLENQKVEFVSIQDQD--KGPAAANVVTI-----
ecCspH	1 MSRKMTGIVKTFDRKSGKGLIIPSDGRKEVQVHISAFTPRD	----AEVLIPLRVEFCRVNGL--RGPTAANVYLS-----
ecCspI	1 MSNKMTGLVKWFNPEKGFGLIIPKDGSKDVFVHFSAIQNSD	----FKTLTENQVEVEFGIENGP--KGPAAHVVAL-----
bsCspB	1 ML---EGKVKWFNSEKGFGLIIVEGGD-DVVFVHFSAIQEG	----FKTLEEGQAVSFEIVEGN--RGQAANVTKEA-----
bsCspC	1 ME---QGTVKWFNAEKGFGLIIBRENGD-DVVFVHFSAIQSDG	----FKSLDEGQKVSFDVEEQD--RGQAANVQKA-----
bsCspD	1 MQ---NGKVKWFNNEKGFGLIIVEGGD-DVVFVHFSAIQSDG	----YKSLDEGQKVSFEIVEGN--RGQAANVVKL-----
CSPA Salmonella	1 MSGKMTGIVKWFNADKGFGLIIPDDGSKDVFVHFSAIQNDG	----YKSLDEGQKVSFTIESGA--KGPAAGNVTSL-----
CSPA Mycobacterium	1 MP---QGTVKWFNAEKGFGLIIPEDGSADVVFVHYTEIQGTG	----FRTLEENQKVEFEIGHSP--KGPQATGVRSL-----
CSPA Micrococcus	1 MA---VGTVKWFNAEKGFGLIIPEDNSADVVFVHFSAIQNG	----FKELQENDRVEFEITQDGP--KGLQAANVTKL-----
CSPA Listeria	1 ME---QGTVKWFNAEKGFGLIIBRENGD-DVVFVHFSAIQSDG	----FKSLDEGQAVTFDVEEQD--RGQAANVQKA-----
CSPA Streptococcus	1 MA---QGTVKWFNAEKGFGLIISTENGQ-DVFAHFSAIQNTG	----FKTLEEGQKVAFDVEEQD--RGQAANVITKLA-----
CSPA Pseudomonas	1 MSNRQNGTVKWFNADKGFGLIIPESGN-DLFFVHFSIQGTG	----FKSLQEGQKVSFVVVNGQ--KGLQADEVQVV-----
CSPB Yersinia	1 MSNKMTGLVKWFNADKGFGLIIPADGSKDVFVHFSAIQND	----YKTLDEGQNVFVSIQDQD--KGPAAANVVAL-----
CSPD Haemophilus	1 ME---IGIVKWFNNAKGFGLIIRNDTKEDVVFVHQTAIKKN	----YRSLKAGQKQVFEVLHSD--KGSATKIIPADTQE--
YB-1 human	58 ---KVLGTVKWFNVRNGYGFIIIRNDTKEDVVFVHQTAIKKN	----YRSLKAGQKQVFEVLHSD--KGSATKIIPADTQE--
DBPA human	90 ---VLGTVKWFNVRNGYGFIIIRNDTKEDVVFVHQTAIKKN	----YRSLKAGQKQVFEVLHSD--KGSATKIIPADTQE--
UNR human	185 ---RCQGVVCAK--EAFGFIIIRNDTKEDVVFVHQTAIKKN	----YRSLKAGQKQVFEVLHSD--KGSATKIIPADTQE--
CRHSP human	62 VY---KGVCKCFCRSKGHGFIIPADGGPDIFLHISDVEGEY	----VPVEGDEVTYKMCSP--KNEKLAQAVEVVIT----
LIN-28 C.elegans	52 RY---FGSCKWFNVSKGYGFVDDITGDLFVHQSNNLMQ	----FRSLDEGERVSYIQERSNGKGREAYVSGE-----

図 2. CSP family タンパク質のアミノ酸配列比較。

tt: *Thermus thermophilus*, ec: *Escherichia coli*, bs: *Bacillus subtilis*

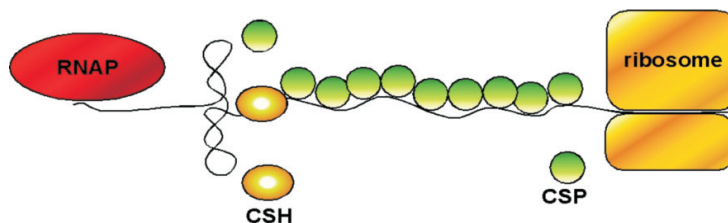


図 3. 転写された mRNA を捕捉する CSP のモデル。

RNAP: RNA polymerase, CSH: RNA helicase

El-Sharoud, W. M. *et al.* (2006) *Sci. Prog.* **89**, 141-149