

高度好熱菌由来ヌクレオイド構成タンパク質 HU の機能解析

Functional analysis of nucleoid associated protein HU from *Thermus thermophilus* HB8西田優也¹, 中川紀子^{2,3}, 増井良治^{2,3}, 倉光成紀^{1,2,3}Yuya Nishida¹, Noriko Nakagawa^{2,3}, Ryoji Masui^{2,3} and Seiki Kuramitsu^{1,2,3}(¹ 阪大・院生命機能, ² 理研・播磨研, ³ 阪大・院理・生物学)(¹ Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ., ² RIKEN Harima Inst., ³ Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)e-mail: nishida@bio.sci.osaka-u.ac.jp

真核細胞と原核細胞を隔てる特徴の一つとして核膜の有無が挙げられる。真核生物のゲノムDNAはヒストンと共にヌクレオソーム構造をとり、これを基本単位としてクロマチン構造を形成して核膜内に収められている。ヒストンタンパク質は真核生物に高度に保存されており、1880年代半ばに発見された後、最も解析の進んでいるタンパク質の一つである。その研究はクロマチンの役割の解明に大きく貢献し、DNAに関するあらゆる現象（複製、修復、遺伝子発現など）に対するクロマチンの役割が示されてきた。一方で、核膜を持たないことが知られていた原核生物は、1970年になってやっとゲノムDNAが凝集した構造が見つかり、ヌクレオイドと命名されたばかりである。それ以後ゲノムDNAと共にヌクレオイドを形成するヌクレオイド構成タンパク質 (NAPs) が発見されたが、それぞれの機能は未だに不明な点も多い。ヌクレオイド構造にはクロマチン構造と同様の役割があると類推されるので、原核生物におけるDNAの関与する現象を理解する上でNAPsの解明は重要な役割を果たすと考えられる。

複数あるNAPsのうち(図1)、進化上広く保存されているものの一つとしてheat-unstable nucleoid protein (HU)がある。HUは約90残基からなる小さなタンパク質であり、通常二量体で存在する。その立体構造はDNAとの複合体も含めて大腸菌や枯草菌などですでに解明されているが、真核細胞のクロマチン構造の様な高次構造の詳細は不明である。HUはDNAと配列非特異的に結合し、一細胞あたり約30,000分子(約60 μM)も存在するため、ゲノムDNAは広域に渡ってHUに覆われていると考えられる。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 (TtHB8) は80°Cと高温で生育可能なバクテリアであり、そのタンパク質は非常に安定で扱いやすい。また、全遺伝子数が約2,200個と少ないため(ヒトは約22,000個)、その遺伝情報には生物に必須な情報が濃縮されていると考えられる。複数あるNAPsに関してもHUを含め3種類しか持たないため、TtHB8のHUにはNAPsのヌクレオイドとしての役割が集約されていると推察される。そこでこれらの利点を活用してTtHB8由来HU (TtHU) の解析を行った。

生化学的解析として、TtHUのDNAに対する結合能、及びTtHUが他のDNA結合タンパク質に与える影響を調べた。生理学的解析では、生体内における相互作用タンパク質の探索を行うと共に、TtHUの遺伝子破壊株の作製を試みた。

今後は、原子間力顕微鏡やクライオ電顕によるヌクレオイドの構造学的解析にも着手する予定である。

	Nucleoid associated proteins													
	HU		HNS ^a		IHF ^b		Other							
	<i>hupA</i>	<i>hupB</i>	<i>hns</i>	<i>sfpA</i>	<i>ihfA</i>	<i>ihfB</i>	<i>cdpA</i>	<i>rob</i>	<i>dnaA</i>	<i>dps</i>	<i>fis</i>	<i>hly</i>	<i>icaA</i>	<i>lyp</i>
<i>T. thermophilus</i> HB8	○	○					○	○						
<i>E. coli</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>H. influenzae</i>	○		○		○				○	○	○	○		○
<i>D. radiodurans</i>		○					○		○					○
<i>B. subtilis</i>		○							○	○				○
<i>T. maritima</i>		○							○			○		

図1. ヌクレオイド構成タンパク質の分布. ^ahistone-like nucleoid structuring protein. ^bintegration host factor.