

高度好熱菌由来 cold shock protein 1 の転写および翻訳システムにおける機能解析  
**Molecular and cellular functions of cold shock protein 1 from *Thermus thermophilus*  
HB8 in transcription and translation systems**

宮崎敏子<sup>1</sup>, 妻鹿良亮<sup>2</sup>, Kwang Kim<sup>1</sup>, 新海暁男<sup>3</sup>, 満足美穂<sup>3</sup>, 中川紀子<sup>1,3</sup>, 増井良治<sup>1,3</sup>,  
倉光成紀<sup>1,2,3</sup>

Toshiko Miyazaki<sup>1</sup>, Ryosuke Mega<sup>1</sup>, Kwang Kim<sup>1</sup>, Akeo Shinkai<sup>3</sup>, Miho Manzoku<sup>3</sup>, Noriko  
Nakagawa<sup>1,2</sup>, Ryoji Masui<sup>1,2</sup>, Seiki Kuramitsu<sup>1,2,3</sup>

(<sup>1</sup> 阪大・院理・生物科学, <sup>2</sup> 阪大・院生命機能, <sup>3</sup> 理研・播磨研)

(<sup>1</sup>Dept. Biol. Sci., Grad. Sch. Sci., Osaka Univ., <sup>2</sup>Grad. Sch. Frontier Biosci., Osaka Univ.,  
<sup>3</sup>RIKEN Spring-8 Center)

e-mail: naka5@bio.sci.osaka-u.ac.jp

生命現象を理解する上で、細胞を構成する生体高分子の1つであるタンパク質の機能解析は非常に重要である。タンパク質の立体構造を基にした分子機能解析は、それぞれのタンパク質の分子機能 (molecular function) を明らかにし、定量的かつ原子レベルの分解能での作用機構を提唱することができる。一方、細胞内ではタンパク質は細胞内外の環境変化によってその働きが調節され、複数の生体高分子と協調してシステムとして働いている。このようなタンパク質の細胞内機能 (cellular function) は、転写反応を担う RNA polymerase や 翻訳反応を担う Ribosome など各システムにおいて中心的な役割を果たす分子では明確である。しかし、システムを微調整する調節因子の中には、細胞内での具体的な働きが不明なものも残されている。このようなタンパク質の細胞内機能を明らかにすることは、各システムをより精確に理解するために必要である。トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析などの omics 解析はゲノムワイドな情報を与え、細胞内機能が不明なタンパク質の機能推定の手がかりとなる。これらのデータと分子機能解析の結果と組み合わせることにより、タンパク質が細胞内で働くモデルを考察することができる。さらにそのモデルを基に検証実験を行うことにより、タンパク質の分子機能と細胞内機能の解析を進めることができる。今回の発表では、分子機能解析と omics 解析の結果から細胞内での作用機構の推定までを、転写や翻訳の調節を行っていると考えられている cold shock protein (Csp) を例として報告する。

*Escherichia coli* の Csp の1つである CspA は、低温環境下でその発現量が増加する cold inducible protein (CIP) の1つとして同定された。そのため、Csp は 低温適応に関わる調節因子であると考えられた。分子機能解析から Csp は1本鎖 RNA や DNA に対する親和性が高く、RNA の二次構造の形成を阻害することから、低温環境下での RNA の二次構造の形成を阻害し、転写を促進する transcription antiterminator として働いていると考えられている。さらに、アミノ酸配列の相同性から *E. coli* では9種類の Csp が見つかるとは、低温環境下だけでなく、栄養枯渇環境下や至適生育温度で恒常的に発現するものなど発現パターンが異なる複数の Csp が1つの細胞内に存在することが明らかになった。これらのことから、細胞内では Csp は低温適応以外の役割も果たしていると考えられるが、その詳細は不明である。

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 では、TTHA0175 (ttCSP1) と TTHA0359 (ttCSP2) の2つの Csp が存在する。遺伝子の発現解析から ttCSP1 は恒常的に発現し、ttCSP2 は低温環境下で発現量が増加する Csp であることが分かった。このことから ttCSP2 は他の CIP と共に低温適応に関わっていると考えられる。一方、ttCSP1 の細胞内での機能は不明であるが、*T. thermophilus* HB8 では発現パターンの異なる2つの Csp のみしか存在せず、恒常的に発現する Csp の機能解析に適している。そこで

ttCSP1 に注目し、*in vitro* での構造機能解析(図1)と *in vivo* でのトランスクリプトーム解析(図2)およびプロテオーム解析(図3)を行った。立体構造解析の結果と DNA (RNA) 結合実験の結果から、ttCSP1 の分子機能として2つの作用機構を提唱した。トランスクリプトーム解析から、ttCsp1 は転写の促進だけでなく阻害することが分かった。その中のいくつかの遺伝子の上流には塩基配列に共通した特徴があることが分かった。これらの特徴と *in vitro* の構造機能解析から考えられる分子機能を合わせて、細胞内で ttCSP1 が働くモデルを考察した。

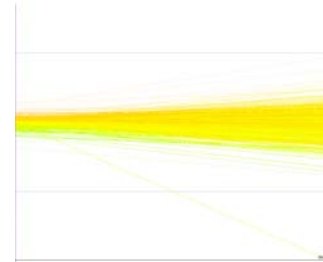
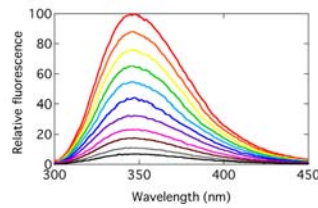


図1 *in vitro* での構造機能解析

図2 トランスクリプトーム解析

↓  
ttCSP1 の分子機能

↓  
ttCSP1 の細胞内機能の推定

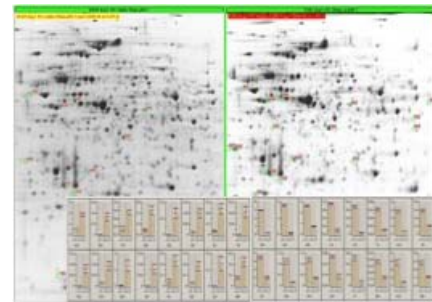


図3 プロテオーム解析