

古細菌型転写終結因子 NusA の結晶構造解析及び RNA 結合解析

**The crystal structure and RNA-binding analysis of
archaeal transcription termination factor NusA from *Aeropyrum pernix***

房富 絵美子¹、柴田 理恵¹、新海 暁男²、西本 まどか¹、
寺田 貴帆¹²、白水 美香子¹²、別所 義隆¹²、横山 茂之¹²³

Emiko Fusatomi¹, Rie Shibata¹, Akeo Shinkai², Madoka Nishimoto¹,
Takaho Terada¹², Mikako Shirouzu¹², Yoshitaka Bessho¹², Shigeyuki Yokoyama¹²³

(¹理研GSC、²理研・播磨研究所、³東大・院理)

(¹RIKEN GSC, ²RIKEN Harima, ³Grad Sch Sci Univ Tokyo)

e-mail: fusatomi@gsc.riken.jp

転写は 3 つのステップ (開始、伸長、終結) で進み、合成開始から終結までの反応は RNA polymerase (RNAP) が様々な転写因子と相互作用して触媒する。古細菌の転写は真核型とバクテリア型の両方の特性を持っている。古細菌 RNAP は、バクテリアよりも真核生物に近いが、それを補助する転写因子は、真核生物型とバクテリア型が混在している。転写終結機構に関しては、バクテリアでは ρ 因子依存性転写終結と、RNA ステムループに依存する内因性転写終結が存在し、RNAP と結合するバクテリア NusA がこの両方に働いている。バクテリア NusA は、N 末端 (NTD)、S1、2 つの KH ドメインから構成され、KH ドメインが RNA と結合すると知られている。既知全ての古細菌に、2 つの KH ドメインのみで成る NusA のホモログが存在するが、その機能は明らかになっていない。我々は、古細菌 NusA の転写機構との関連性を探るため、クレン古細菌の *Aeropyrum pernix* NusA の結晶構造解析を行い、バクテリア NusA との三次構造上の比較、及び RNA との結合能力の有無を調べた。

2.0 Å の分解能での構造解析から、*A. pernix* NusA の 2 つの KH ドメインの立体配置はバクテリア NusA とほぼ同じで、古細菌 NusA も転写に関与する事が思惟された。そこで、古細菌には ρ 因子が無いことから、古細菌 NusA が内因性転写終結に作用するか調べる目的で *Aeropyrum* 23S rRNA の周辺配列に対してピアコアアッセイを行った。その結果 23S rRNA の下流にある CU-rich 配列に強く結合することが明らかになった。古細菌 NusA はステムループに依存していなかった事から、バクテリアの内因性転写終結とは異なる機構であることが示唆された。立体構造の詳細なデータ解析から、バクテリアで見出されている KH1 ドメインの α 1' helix が、古細菌にはなく、7 Å 分子サイズの空間ができていたことが分かった。この部分は RNAP と相互作用すると推定できる側に位置しており、この特徴は真核型とバクテリア型の RNAP の違いと関係しているように思われる。また、真核生物には NusA のホモログは見付かっていないこと等からも、古細菌は、真核生物ともバクテリアとも異なる非常に特徴的な転写終結機構を持つと推定される。