

平成26年10月15日
愛媛大学

遺伝子発現の中核を担う転写装置の新たな機構を発見 ～超好熱菌の転写装置のX線結晶構造解析により判明～

このたび、愛媛大学大学院理工学研究科の平田章講師は、京都大学の金井保講師、立命館大学の今中忠行教授、米国コロラド州立大学、米国ペンシルバニア州立大学の村上勝彦准教授らとの共同研究によって、原始生命体に極めて近い超好熱菌の転写装置 RNA ポリメラーゼのX線結晶構造解析に成功しました。

本研究結果から、超好熱菌 RNA ポリメラーゼの新たな転写機構の発見や、高次生命現象を制御する真核生物（ヒトや動物が含まれる）型 RNA ポリメラーゼとの分子機能進化の変遷過程などを解明するに至りました。今後、転写機構の基本原則を解明する学術的研究の発展だけでなく、RNA ポリメラーゼに特異的に結合する化合物をデザインすることで新規抗菌剤の創製に繋がるものと期待されます。

なお、本研究成果は、総合学術誌 Nature の姉妹誌である英国科学誌「Nature Communications」に平成26年10月14日18:00(日本時間)にオンライン掲載されました。

つきましては、地域へ広く周知いただきますとともに、取材くださいますようお願いいたします。

記

掲載誌：Nature Communications

論文タイトル：The X-ray crystal structure of euryarchaeal RNA polymerase in an open-clamp configuration

(和訳) オープンクランプ構造を保持したユーリアーキア型RNAポリメラーゼのX線結晶構造

共同研究者：愛媛大学大学院理工学研究科

講師 平田 章

京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻生物化学講座

講師 金井 保

米国コロラド州立大学 分子生物・生化学部

助教 Thomas J. Santangelo

立命館大学生命科学部生物工学講座

教授 今中 忠行

米国ペンシルバニア州立大学 分子生物・生化学部

博士 Sung-Hoon Jun

准教授 村上 勝彦

本件に関する問い合わせ先

担当部署：大学院理工学研究科

物質生命工学専攻

担当者名：講師 平田 章

TEL：089-927-9919

Mail：hirata.akira.mg@ehime-u.ac.jp

※送付資料3枚（本紙を含む）

遺伝子発現の中核を担う転写装置の新たな機構を発見

～超好熱菌の転写装置の X 線結晶構造解析により判明～

【概要】

このたび、国立大学法人愛媛大学大学院理工学研究科の平田章講師は、京都大学の金井保講師、立命館大学の今中忠行教授、米国コロラド州立大学、米国ペンシルバニア州立大学の村上勝彦准教授らとの共同研究によって、原始生命体に極めて近い超好熱菌の転写装置 RNA ポリメラーゼの X 線結晶構造解析に成功しました。

本研究結果から、超好熱菌 RNA ポリメラーゼの新たな転写機構の発見や、高次生命現象を制御する真核生物（ヒトや動物が含まれる）型 RNA ポリメラーゼとの分子機能進化の変遷過程などを解明するに至りました。今後、転写機構の基本原則を解明する学術的研究の発展だけでなく、RNA ポリメラーゼに特異的に結合する化合物をデザインすることで新規抗菌剤の創製に繋がるものと期待されます。

なお、本研究結果は、総合学術誌 Nature の姉妹誌である英国科学誌「Nature Communications」に平成 26 年 10 月 14 日 18:00（日本時間）にオンライン掲載されました。

【背景】

ヒトを含む全生物のゲノム DNA 上の遺伝情報は、まず、メッセンジャーRNA (mRNA) と呼ばれる物質に写し取られ (転写)、この mRNA の情報をもとにタンパク質が作られます。この遺伝情報発現の一連の流れは分子生物学において「セントラルドグマ」と称される過程であり、全生物に必要な生命現象です。転写反応において、mRNA の合成を触媒する分子は RNA ポリメラーゼと呼ばれます。RNA ポリメラーゼは、通常、複数タンパク質から成る巨大分子複合体であり、mRNA の合成に至る複雑な反応を一手に担う転写装置です。

地球上の全生物は 3 つの生命ドメイン (細菌、アーキア¹⁾、真核生物) に分類され、そのうちアーキアと真核生物では、その RNA ポリメラーゼの「かたち」と「はたらき」がお互いによく似ています。アーキア型 RNA ポリメラーゼの構成因子は真核生物型のものとは比べて、転写反応に最低限必要と思われる因子のみを含むシンプルな構成をしていることが分かります。すなわち、アーキア型 RNA ポリメラーゼは進化的に古い状態を保っていることが予想され、真核生物型 RNA ポリメラーゼとは転写反応に最低限必要な基本原則を共有していると考えられます。したがって、両者に共通する反応の基本原則を分子レベルで解明すれば、ヒトを含む真核生物型 RNA ポリメラーゼがどのように高次生命現象 (細胞の分化・発生など) を制御できるようになったかという進化上の謎に答えるための、大きな手がかりを得ることができます。そこで本研究では、超好熱性アーキアである *Thermococcus kodakarensis*²⁾ の RNA ポリメラーゼの X 線結晶構造を決定しました。

【内容】

1. 超好熱性アーキア RNA ポリメラーゼは、11 個のタンパク質が寄り集まった大きな「カ

ニの爪」のような「かたち」をしています (図1左)。この「かたち」は基質となる DNA を掴むためです。11 個のタンパク質のうち、2 個のタンパク質からなる「ストーク (煙突)」が中心部分から突出しています。また、予想通り全体の「かたち」は、真核生物のものと同様です (図1右)。しかし、両者を詳細に比較したところ、真核生物型 RNA ポリメラーゼのみに存在する「特異的挿入配列」が発見されました。その「特異的挿入配列」を使って、真核生物型 RNA ポリメラーゼは様々な基本転写因子³⁾ と結合することにより、多岐にわたる高次生命現象の発現を制御していることが判りました。おそらく、真核生物型 RNA ポリメラーゼは、原始生命体に極めて近い超好熱菌の (アーキア型) RNA ポリメラーゼを基に「特異的挿入配列」を獲得することで分子的に進化したことが考えられます。

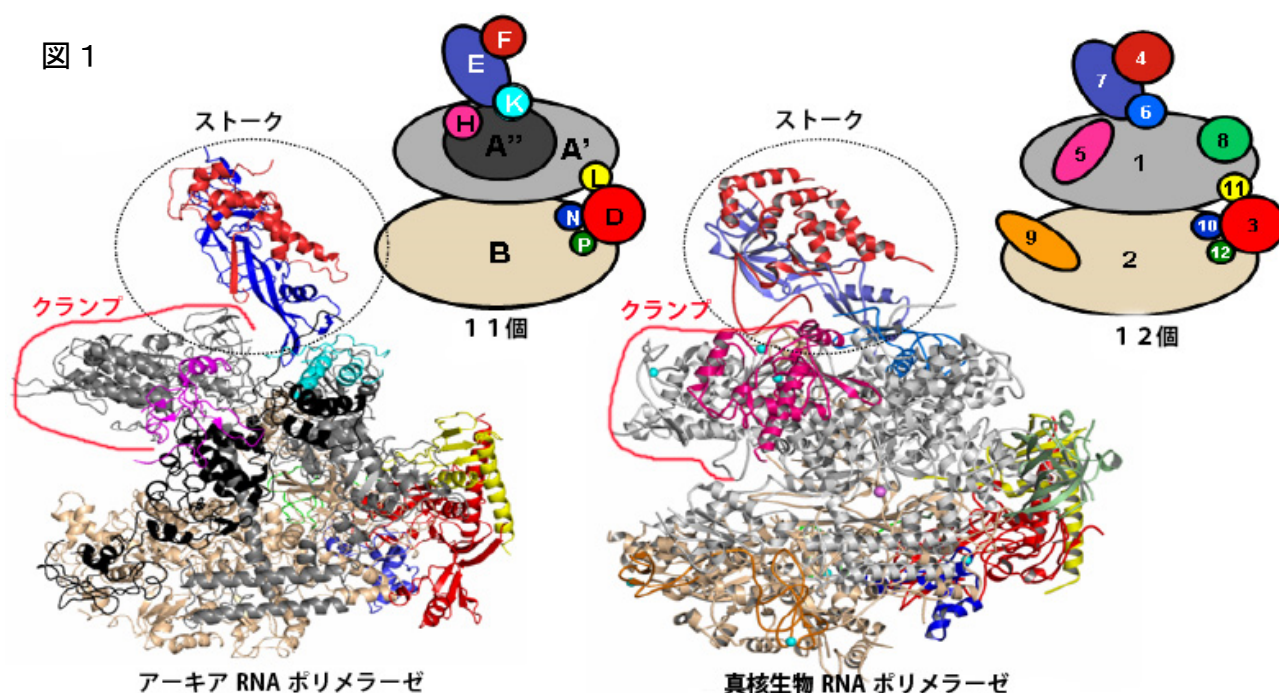


図1 アーキア型 RNA ポリメラーゼの X 線結晶構造 (左図)、真核生物型 RNA ポリメラーゼの X 線結晶構造 (右図)。各タンパク質ユニットは予想される機能に基づいて色分けされている。アーキア型 RNA ポリメラーゼのクランプは真核生物型とは異なり開いた状態である。

2. 超好熱性アーキアの RNA ポリメラーゼの「カニの爪」の部分である「クランプ」部分は「ストーク」が存在しているにもかかわらず、真核生物型とは異なり開いた状態の構造であることが判りました (図1)。今まで、真核生物 RNA ポリメラーゼにおいて、「ストーク」部分がない場合には「クランプ」が開く、「ストーク」部分がある場合は閉じるなど、「ストーク」の有無で「クランプ」の開閉が制御されていることが常識でした。しかし、本研究結果と以前に報告した研究結果を組み合わせることで、「ストーク」の構造変化に伴い「クランプ」が開閉する新しい分子機構を突きとめることができました。したがって、アーキアおよび真核生物 RNA ポリメラーゼは、「ストーク」と「クランプ」が連動して転写反応を行っていることが明らかになりました。さらに転写促進因子 TFE が「ストーク」と「クランプ」の間に結合することによって、「クランプ」が開き、その結果、アーキア RNA ポリメ

ラーゼの転写反応が促進されることを見出しました（図2）。

図2

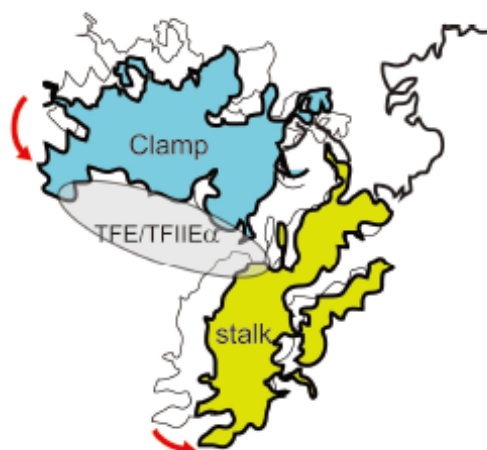


図2 転写促進因子 TFE がクランプ (Clamp) とストーク(stalk)の間に結合することによって、ストークとクランプが矢印の方向に動き、その結果、クランプは開いた状態になる。クランプが開いた状態になることで、転写開始反応が安定化する。

【今後の展開】

今回の研究によって、RNA ポリメラーゼの複雑な多段階反応機構の全容解明に繋がることを期待されます。また、アーキア型 RNA ポリメラーゼの「かたち」の分子情報をもとに、これを標的とする阻害分子の研究開発が可能となります。現在のところ、アーキアの中に病原性を示す種がいるという直接的な証拠はありません。しかしながら、ヒトの歯周病や腸の消化・吸収および癌化に関与しているという推測もなされています。そのような疾患がアーキアによるものなのかを検証するためにも、アーキア特異的に作用する阻害分子の開発が急務です。アーキアでは、アーキア型 RNA ポリメラーゼ以外の転写装置をもたないことから、これに対する阻害分子は、アーキアに対する抗生物質となることが予想されます。したがって、将来的にはアーキアに対する抗生物質が、ヒトの疾患に対する治療薬となることも期待できるかもしれません。

【用語解説】

1) アーキア

古細菌あるいは始原菌とも称される。生物を構成する3つのドメイン（細菌、真核生物、アーキア）の中の1つ。16S/18SrRNAの塩基配列を基にした進化系統学的解析では、生物の進化過程は、まず共通祖先から細菌が分離し、その後にアーキアと真核生物が分離したと考えられている。この説は、遺伝情報の発現に関与するDNA複製・転写・翻訳などの分子装置が、アーキアと真核生物の間で極めて類似していることから支持されている。

2) *Thermococcus kodakarensis*

鹿児島県小宝島の硫気孔で単離された超好熱性・偏性嫌気性アーキアであり、その生育温

度は 60~100°C (至適生育温度: 85°C)。2005 年に全ゲノム塩基配列が解読され、2,300 個程度の遺伝子を有する。また超好熱菌では数少ない遺伝子組換え系が存在していることも大きな特徴である。超好熱菌のタンパク質の大半は耐熱性をもち、工業的に安定な酵素の供給源として期待されている。実際に本菌の DNA ポリメラーゼは、KOD DNA ポリメラーゼという商品名で市販され、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)において広く用いられている。

3) 基本転写因子

RNA ポリメラーゼによって転写を開始するときに、基本的に必要なタンパク質性の因子。アーキア型 RNA ポリメラーゼは、2つの基本転写因子のみで転写を開始することができるが、真核生物型 RNA ポリメラーゼは試験管内実験において、6つの基本転写因子を必要とする。

【発表論文】

掲載誌: 「Nature Communications」

論文タイトル: The X-ray crystal structure of euryarchaeal RNA polymerase in an open-clamp configuration (オープンクランプ構造を保持したユーリアーキア型 RNA ポリメラーゼの X 線結晶構造)

著者: Sung-Hoon Jun, *Akira Hirata, Tamotsu Kanai, Thomas J. Santangelo, Tadayuki Imanaka and *Katsuhiko S. Murakami *共同責任著者

共同研究者: 国立大学法人京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻生物化学講座
金井保 講師
米国コロラド州立大学 分子生物・生化学部
Thomas J.Santangelo 助教
立命館大学生命科学部生物工学講座
今中忠行教授
米国ペンシルバニア州立大学 分子生物・生化学部
Sung-Hoon Jun 博士、村上勝彦准教授

掲載日: 2014 年 10 月 14 日 18:00 (日本時間)

DOI: 10.1038/ncomms6132

【本研究内容に関する問い合わせ先】

国立大学法人愛媛大学
大学院理工学研究科物質生命工学専攻
講師 平田 章
Tel: 089-927-9919
E-mail: hirata.akira.mg@ehime-u.ac.jp