

脂肪酸分解に関わる転写因子の構造解析 Structure analyses of a transcription factor involved in fatty acid degradation

藤橋雅宏*, 中谷大河, 三木邦夫

京都大学大学院理学研究科 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

1 はじめに

枯草菌由来の転写因子 FadR_{Bs} は、脂肪酸分解に関わることが知られている。この因子は TetR superfamily に属し、脂肪酸の β 酸化に関わる遺伝子群で構成されるオペロンの転写を抑制しているが、dodecyl-CoA(脂肪鎖の炭素数 12)よりも長い脂肪鎖をもつ acyl-CoA と結合する事により、DNA との結合能を失う。脂肪酸の β 酸化に関わる遺伝子群の転写は、 FadR_{Bs} が acyl-CoA との結合により DNA から解離することで開始される。同様の働きを行う転写因子として、大腸菌の FadR_{Es} 等も知られているが、 FadR_{Es} は脂肪酸の合成と分解の両方を制御するのに対し、 FadR_{Bs} は脂肪酸分解のみの制御を担っている。

本研究ではこの因子の転写制御機構を明らかにするために、DNA 結合能をもつ活性型と、acyl-CoA を結合し DNA との結合能を失った不活性型の構造解析を行った。

2 実験

FadR_{Bs} の結晶は、活性型・不活性型とも、PEG3350 または PEG4000 を主な沈殿剤とした結晶化条件で得た。不活性型の調製は、炭素数 14 個の脂肪鎖をもつ stearyl-CoA を FadR_{Bs} に混合することで行った。X 線回折データは、BL5A で収集した。活性型の結晶は空間群 $P2_12_12_1$ に属し、格子定数は $a = 56.2 \text{ \AA}$, $b = 66.1 \text{ \AA}$, $c = 99.0 \text{ \AA}$ であった。分解能は 2.15 \AA であった。stearyl-CoA を結合した不活性型

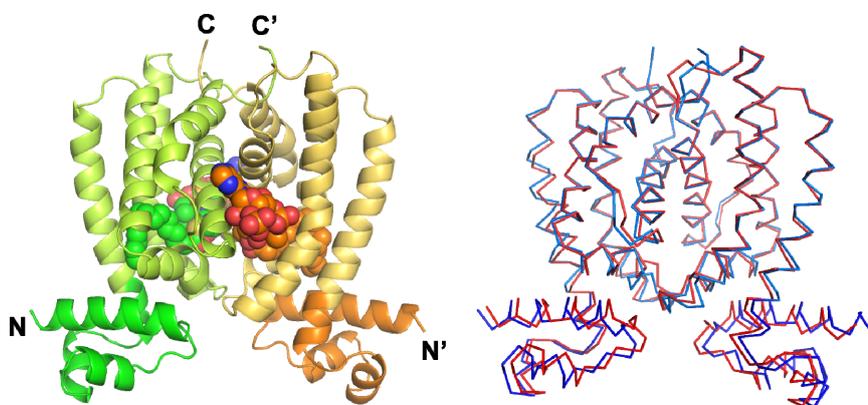
の結晶も、空間群 $P2_12_12_1$ に属していたが、格子定数は $a = 70.3 \text{ \AA}$, $b = 88.8 \text{ \AA}$, $c = 199.9 \text{ \AA}$ と大幅に異なるものであった。分解能は活性型とほぼ同じ 2.20 \AA の回折データが得られた。

3 結果および考察

位相決定は類似配列をもつ転写因子の構造をモデル分子とした分子置換法によって得た。活性型 FadR_{Bs} 結晶の非対称単位には、転写制御因子の基本単位である二量体が存在した。不活性型 FadR_{Bs} 結晶の非対称単位には、二量体が三分子存在していた。活性型の構造は R/R_{free} 因子 23.5%/28.5%まで、不活性型の構造は R/R_{free} 因子 23.3%/28.2%まで精密化した。

得られた FadR_{Bs} の全体構造を下図左に示す。構造は N 末及び C 末の二つのドメインに分かれており、DNA との結合に関わるのは N 末領域である。 FadR_{Bs} を不活性型に変換する stearyl-CoA は、C 末ドメインの内部に結合していた。活性型・不活性型の二つの構造を、C 末ドメインを基準に重ねると、N 末ドメインが開くような構造変化が見られる(下図右)。この構造変化が DNA への結合能を制御していると考えられる。現在、さらに詳しい情報を得るため、DNA 複合体の結晶構造解析を検討している。

*mfuji@kuchem.kyoto-u.ac.jp



図左: FadR_{Bs} (活性型)の全体構造。

二量体を構成するそれぞれのサブユニットを、緑、オレンジで示す。それぞれのサブユニット内の濃色・淡色は、N 末・C 末ドメインを示す。sphere model で示しているのは、 FadR_{Bs} に結合している stearyl-CoA。

図右: DNA に結合可能な活性型(赤)、結合できない不活性型(青)構造の重ね合わせ。acyl-CoA が結合する事により、不活性型では N 末ドメインが両側が開くと考えられる。