

# 微生物由来遺伝子転写調節因子の結晶構造と機能

千田俊哉

産業技術総合研究所・生物情報解析研究センター

遺伝子の転写調節機構は、生物学における中心的な研究課題で、古くから精力的に研究が行われてきた。微生物学の分野においても、基本転写因子や、それらの働きを調節する転写調節因子の研究が盛んに行われている。その結果、数多くの転写調節因子が微生物から単離されてきた。それらの中でも、LysR ファミリー蛋白質 (LysR-type transcriptional regulator : LTTR) は、最も多く単離されている転写調節因子の一群で、アミノ酸の生合成、薬剤耐性、炭素同化 (炭酸固定)、芳香族化合物の分解代謝をはじめとする、様々な微生物機能に關与する遺伝子群の転写調節を行うことが知られている。このため LTTR についての研究は、転写調節という純粋な生物学的興味だけではなく、微生物の有効利用という面からも精力的に行なわれてきた。これまでの分子生物学および生化学的解析の結果、一般に LTTR は、約 60 塩基対の長さの DNA 中に RBS と ABS という2つの認識配列を持ち、これらとの結合により DNA 分子を折れ曲げることが知られている。さらに、インデューサ分子の LTTR への結合にともない、結合している DNA の折れ曲がりを緩和させることも知られている。しかし、現在に至るまで LTTR の全体構造が不明であったため、これらの現象がどのようなメカニズムで起こるのかは全くの謎であった。今回、我々が決定した LTTR の1つである *Ralstonia eutropha* NH9 由来の CbnR の結晶構造は、これらの謎に答えを与え、微生物の転写調節に関する理解を深めるものであった。本構造は世界で初めて決定された LTTR の全長構造である (Fig. 1)。

CbnR の結晶構造は、多波長異常分散法により 2.7Å 分解能で決定された。その後、2.2Å 分解能で結晶学的精密化を行い、最終的な構造を得た。CbnR は4量体 (homotetramer) を形成していたが、compact form および extended form と名付けられた2つの異なるコンフォメーションを持つサブユニット、それぞれ2つずつから構成されていた。このため、一般的な4量体分子のように点群 222 の対称性を持たず、分子中に1つの2回軸を持つという変則的な4量体構造をとっていた (Fig. 1)。各サブユニットは、いずれも DNA 結合ドメインと制御ドメインから構成されており、この2つのドメインが 29 アミノ酸残基からなるリンカーヘリックスと呼ばれる部分でつながれていた。

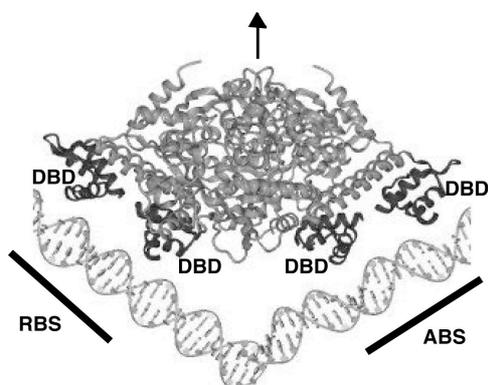


Fig. 1 CbnR-DNA 複合体のモデル図

矢印は分子内2回軸を示す

今回得られた CbnR の結晶構造と屈曲 DNA のモデル構造を用いたドッキングシミュレーションを行うことで、4量体 CbnR の結晶構造は、LTTR の転写調節における特徴をうまく説明できることがわかった (Fig. 1)。まず、CbnR の4量体中にある4つの DNA 結合ドメインは、4量体の底面に一列に配列しているため、CbnR は4つの DNA 結合ドメインを使って 60bp におよぶ長い DNA 領域と相互作用できることが明らかとなった。更に、4つの DNA 結合ドメインは、4量体の凸型の底面にそって V 字型に配列していることから、DNA 結合に伴い、DNA に折れ曲がり構造を誘起することが容易に想像できた。