

「生命活動のプログラム」  
平成 8 年度採択研究代表者

鈴木 理

(産業技術総合研究所 脳神経情報研究部門  
DNA情報科学研究グループ グループリーダー)

## 「超好熱性古細菌転写ネットワークの構造生物学的解析」

### 1. 研究実施の概要

本研究では超好熱性古細菌の転写調節機構を系統的に解析する事により、

1. 転写調節系全体像の解明
2. 細胞内での生体高分子(蛋白質、核酸)の耐熱化機構の解明
3. 古細菌を含めた三生物界の進化の機構の解明を目標とする。

好気、嫌気どちらの環境にも適応する古細菌 *Thermoplasma volcanium* の全ゲノム塩基配列を決定、解析し、その全遺伝子、全プロモーターを情報科学的に同定した。またTBP、Lrp、NusG、NusA等転写、翻訳の調節に関与する古細菌由来蛋白質の立体構造を、X線結晶回折法やNMR分光法を用いて、決定した。この結果、目標2に関連して、蛋白質の熱的な安定性の最重要要因は蛋白質各ドメイン内部の疎水性相互作用であり、従来言われてきた、蛋白質表面の静電相互作用はあまり貢献していないとの結果が得られつつある。またLrp蛋白質一種の立体構造を決定するとともに、異なるLrp蛋白質どうしの相互作用を研究し、この結果、これらの蛋白質群の組み合わせにより古細菌の代謝に関与する非常に多数の遺伝子が制御される仕組み(目標1)が明らかになりつつある。さらにゲノム塩基配列全体を使った生物の比較(目標3)について進展を得た。

### 2. 研究実施内容

転写調節因子による遺伝子発現の制御は、転写調節因子とプロモーターDNAの分子構造を介した相互作用の結果としてなされる。研究目標1、2に関連して、本グループは、NMR分光法、X線結晶解析法、電子顕微鏡法等を駆使してその認識特異性の起源を研究し、その過程で10例程度の蛋白質の立体構造を決定した。その一つが古細菌 *Pyrococcus* の蛋白質Lrpである。

Lrpは大腸菌に多数ある転写調節因子の一例ではなく、「グローバル」転写調節因子とも呼ばれ、大腸菌では全遺伝子の10%以上をも制御すると考えられている。古細菌のゲノムには大腸菌のLrpのホモログが多数記録されている(*Thermoplasma* で6個、*Pyrococcus* で14個)。ゲノムDNA配列の解析から古細菌Lrp蛋白質の中に

は二つのドメイン（N、C）を持つ通常のLrp以外にCドメインのみを持つものがある事を見出した。DNA結合に直接関与するのはNドメインのみと考えられていて、CドメインだけではDNAに結合できない。Lrp遺伝子数の増加やその種類の多様化は、古細菌、真正細菌を通して、環境に適応して高度な代謝制御を行う従属栄養菌で高い。逆に、環境に適応しない独立栄養菌や完全従属栄養性病原菌の中にはLrp遺伝子がないものもある。大腸菌から類推すると古細菌では全遺伝子の半分以上、種によっては全遺伝子の7～8割がLrpに制御されている可能性すらある。

Nドメインが無い、古細菌由来Lrp蛋白質を1998年に結晶化し、2000年末にその立体構造の決定を終了した。結晶中でLrpは八量体を形成しており、これにNドメインを付加した予想直径は、真核生物ヌクレオソームの直径よりもやや大きく、一方、より薄い円盤型である。この大きさから、その周囲には約100塩基のDNAが結合するものと考えられる。ヌクレオソームとは異なり、Lrpは低分子のリガンドの結合部位を持つ。

Lrp八量体の中央には大きな「ポケット」が開いていて、さらにここから十字型に「裂け目」が広がっている。大腸菌Lrpを使った各種実験結果をこの構造に照らして解釈すると、各二量体間の「裂け目」に2分子のロイシンが結合し、八量体形成を阻止して解離させるものと考えられる。実際、Lrp結晶へロイシンをソーキングすると結晶は壊れて白濁する。これにより効率的なDNA結合は阻止される。一方、水溶液中ではLrp蛋白質は二量体としてしか存在せず、中央のポケットへの（おそらく別の）リガンドの結合が八量体の形成を、さらにはDNAへの結合を助ける可能性が高い。環境の変化を察知して、この情報を細胞内の2つのタイプ（活性化と抑制）のリガンド分子の濃度へと変換する事によりLrpのプロモーターへの結合、さらにはプロモーター下流の遺伝子発現が制御される可能性が高い。

古細菌ゲノムにコードされるLrpは、そのアミノ酸配列の類似性から、基本的に同じ立体構造を持つものと予想される。本グループは、異なるLrpどうしが会合し得るとの実験結果を得ている。しかしながらアミノ酸配列は完全には同じではなく、会合体を構成するLrpの種類によって「ポケット」や「裂け目」に面するアミノ酸が変化している。したがって、異なるLrpから構成される会合体は異なるリガンド選択性を持つものと考えられる。Lrp蛋白質の中にはDNA結合ドメインを持つものと持たないものがある。2種のLrpだけでも会合体のまわりのDNA結合ドメインの数と配置の異なる、したがってその結合するプロモーター配列が異なる無数の組み合わせが可能である。したがって、環境変化がまずリガンドへと伝わり、リガンドの種類によって異なるLrp会合体が形成され、異なるプロモーターに結合し、最終的には異なる遺伝子の発現もしくはその抑制が選択されると考えられる。このような「組み合わせ」の「場合の数」による多様性の創出は、デジタル情報を根底

とする（つまり青と黄の混合が緑になってしまわない）生命現象の本質である。

本グループは、1997年より1999年にかけて、古細菌 *Thermoplasma volcanium* の全ゲノムDNA配列（1,584,804塩基）を決定した。平成12年度は、1998年に開発した古細菌の遺伝子同定のための情報科学技術を用いて *Thermoplasma* のゲノム配列を遺伝子部と非遺伝子部に切り分け、これによって全プロモーター配列を系統的に同定した。*Thermoplasma* はゲノムDNA配列が決定された古細菌の中で、唯一、好気、嫌気の両環境下に生育し、環境変化に適応して系統的な遺伝子のスイッチングを行う。これがこの種を研究対象とした重要な理由の一つである。各環境特異的に使用される遺伝子群を情報科学的に同定するとともに、mRNAや蛋白質のレベルで各環境特異的に発現する遺伝子群を同定した。これらの遺伝子群のプロモーター配列を比較した結果、好気特有プロモーターにのみ特定の数塩基が周期的に配置されている事を見出した。このようなプロモーター配列は、前述した、特定のLrp蛋白質会合体によって認識されるものと考えられる。実際に、本グループは好気性あるいは嫌気性環境特異的に使用される *Thermoplasma* のLrp遺伝子を同定している。このようにLrp会合体の構造生物学的研究とプロモーター DNA配列の情報科学的研究の有機的な統合により、古細菌ゲノムのカラクリの本質が明らかになる日は近いと考えている。

研究課題3に関連して、近種の古細菌どうし（*Thermoplasma volcanium* と *Thermoplasma acidophilum*、*Pyrococcus OT3* と *Pyrococcus abyssi*）のゲノム配列に基づく比較研究を行った。特に注目すべき結果として、全ゲノム塩基配列どうしの比較の結果、1億年に1度ぐらいの割合で、DNA複製開始点を中心として対称的な2つの位置でゲノムがつけかえられている事を見出し、これを説明する分子メカニズムを提唱した。

### 3．主な研究成果の発表（論文発表）

#### オリジナル論文

Kudo N., Allen M. D., Koike H., Katsuya Y., and Suzuki M( 2001 )

Crystallization and Secondary Structure Determination of a Protein in the Lrp/AsnC Family from a Hyperthermophilic Archaeon, *Acta Cryst.*, D57, 469-471.

Kawashima T., Amano N., Koike H., Makino S., Higuchi S., Kawashima-Oya Y., Watanabe K., Yamazaki M., Kanehori K., Kawamoto T., Nunoshiba T., Yamamoto Y., Aramaki H., Makino K., and Suzuki M( 2000 )

Archaeal adaptation to higher temperatures revealed by genomic sequence of *Thermoplasma Volcanium*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 14257-14262.

## 総説、著書

### 和文総説

鈴木 理 「DNA立体構造とゲノム情報システム」

『BIO INDUSTRY』 第18巻 2号, 24-32( 2001 )

鈴木 理 「歴史を通じて観た「きわめて私的な」生物物理観」

『生物物理』 第41巻 1号, 35-38( 2001 )

天野直己、牧野伸一、小池英明、鈴木理 「ポリグルタミンの構造生物学」

『脳の科学』 第22巻 8号, 879-884( 2000 )

鈴木 理 「21世紀の生命情報科学」『化学工業』 第51巻 1号, 36-44( 2000 )

### 著 書

鈴木 理 「ゲノムDNA配列と蛋白質立体構造に基づく技術」

日本ビジネスレポート株式会社, 『技術予測レポート』 4巻 バイオテクノロジー編  
79-85( 2000 )