

RNAの構造変化が遺伝子のスイッチをONにする アンチターミネーション複合体の立体構造を解明

転写制御タンパク質 HutP、RNA、L-ヒスチジン、Mg²⁺ イオンからなるアンチターミネーション複合体の構造をX線結晶解析で決定した。この複合体の構造から、HutPがターミネーターRNAに特異的に結合すると、RNAは三角形の構造に変化し、下流のmRNAの転写開始のスイッチがONになるというアンチターミネーションの形成機構を提案した。

HutP regulates the expression of the hut structural genes of *Bacillus subtilis* by an anti-termination mechanism. A study of the crystal structure of HutP protein bound to a conserved sequence of the terminator of the hut mRNA show how HutP specifically recognizes the RNA and reveals the unexpected direct role of the Mg²⁺ ion for mediating the L-histidine-dependent structural rearrangement in the protein. Additional structural analyses revealed intermediate structures and allowed us to conclude that the Mg²⁺ ion together with L-histidine plays a major role to activate the HutP protein for binding to its cognate RNA.

Penmetcha Kumar

ぺんめっちゃ くまーる
pkr-kumar@aist.go.jp
生物機能工学研究部門
機能性核酸研究グループ 主任研究員

新しい機能をもつRNA分子の創製や、遺伝子発現の過程で生じるRNAとタンパク質との複合体の構造生物学的研究を展開しており、多くの国際的な成果をあげている。中でも、特定の分子を特異的に認識するRNA（アプタマー；変異集団の中から選択された最適分子）に注目し、インフルエンザウイルスなど重要なウイルス、タンパク質をターゲットとしたRNAアプタマーを創製してきた。RNAアプタマーは、抗体を超えた利便性を有する分子であると世界的にも注目され始めており、今後はその応用に向けた研究も行っていきたい。



枯草菌遺伝子のスイッチ

枯草菌のhut遺伝子（*histidine utilization genes*）はヒスチジンを分解する際に働く遺伝子であり、枯草菌が栄養不足になると発現する。その遺伝子は、正の制御遺伝子hutPとそれに続く5個の構造遺伝子からなるhutオペロンで構成される（図1）。このオペロンの発現は、L-ヒスチジンによって誘発されるアンチターミネーションによって起こる。hutPと5個の構造遺伝子群の間に位置するRNA配列はステム-ループを形成し、通常はターミネーターとして働いている。このターミ

ネーター機能は、L-ヒスチジンと結合したHutPタンパク質（hutP産物）によって失われる。すなわち、HutPはL-ヒスチジンの存在下で上述のステム-ループと特異的に結合し、RNAの構造変化を引き起こして、アンチターミネーター複合体をつくる。

われわれは、まずHutPとL-ヒスチジン誘導体の結晶構造を決定した（PDB登録番号：1VEA）。その構造から、2分子のHutPは2量体をつくり、それが3回対称によって6量体を形成していること、また、L-ヒスチジンは2量体間インターフェース内で結合して

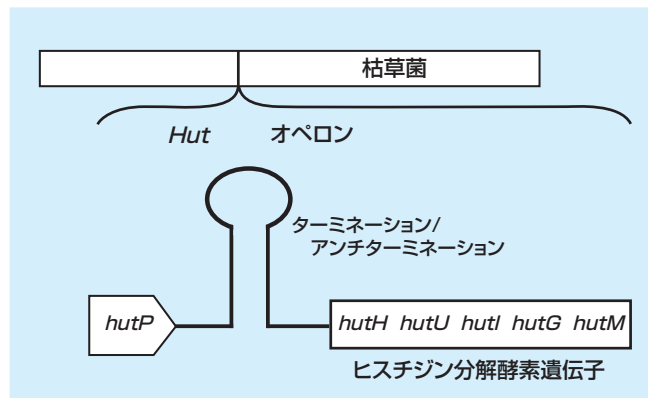


図1 枯草菌hutオペロン

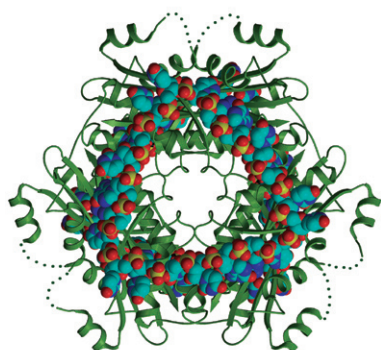


図2 アンチターミネーション複合体の立体構造

リボンモデルは HutP 量体を示し、三角形構造の CPK モデルは RNA を示す。

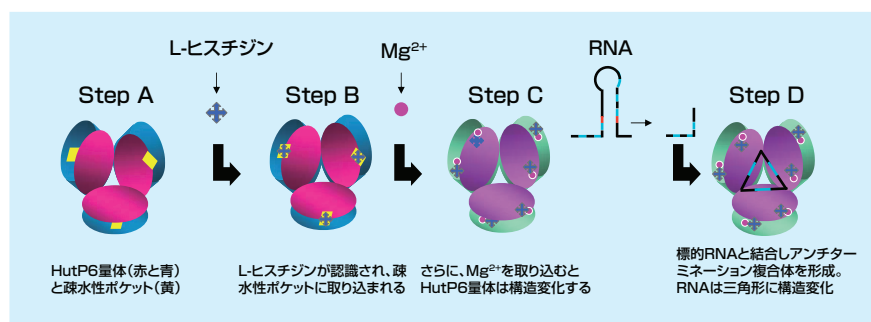


図3 アンチターミネーション形成機構の模式図

いることを明らかにした。一方、生化学実験により、L-ヒスチジンによって活性化されたHutPは、上述のRNA配列のうちUAGの繰り返し配列を認識すること、さらに繰り返し配列の間には、保存されていない4個のヌクレオチドがスパーサーとして入ることを明らかにした。また、このRNA配列とHutPとの結合には、 Mg^{2+} イオンも不可欠であることが判明した。

RNA がヘアピン型から三角形に

最近、われわれはHutP、一本鎖RNA (21-mer)、L-ヒスチジン、 Mg^{2+} イオンからなるアンチターミネーション複合体の1.60Å分解能でのX線解析に成功した (PDB登録番号: 1WMQ)。この複合体では、結合したRNAはHutP6量体の表面において三角形の構造をとっており (図2)、塩基がHutPとの間で特異的に相互作用していることなどが明らかになった。さらに、アンチターミネーションに至る中間構造を調べるために、この4次複合体からRNAを除いた複合体 (PDB登録番号: 1WPV)、および複合体を形成しないHutP単独のもの (PDB登録番号: 1WPS) のX線

解析にも成功した。これらの構造を比較検討して、ターミネーションからアンチターミネーションに至る形成機構を分子構造に基づいて提案した (図3)。すなわち、A: HutPは6量体を形成し、疎水性ポケットをつくる、B: HutP6量体がL-ヒスチジンを認識する、C: さらに Mg^{2+} イオンが取り込まれると、HutP6量体が構造変化する、D: 構造変化したHutP6量体は標的のUAGの繰り返し配列をもつRNAと特異的に結合し、その結果RNAは新規な三角形の構造をとる。これをまとめると、ステムループ構造のターミネーターRNAは、L-ヒスチジンと Mg^{2+} イオンにより活性化されたHutPの介在により、構造変化を引き起こし、アンチターミネーションに導かれる。すな

わち、RNAの構造変化が下流のhut構造遺伝子発現のスイッチをONにするものと推察される。

今日まで、アンチターミネーション、アテニュエーションなど細菌の転写制御に関する構造生物学的な研究の報告は2件のみである。しかも、タンパク質とRNAの複合体では、リガンド結合前と結合後の構造変化が調べられたことはない。今回の研究で明らかにされたアンチターミネーション形成機構は、細菌あるいは原核生物のアンチターミネーション、アテニュエーション機構を研究する上で役立つものと考えられる。また、バイオ分子スイッチの開発を含めた産業分野への応用にも結びつくものと期待される。

関連情報:

- 共同研究者: T. S. Kumarevel, 水野 洋 (NECソフト株式会社) .
- T. S. Kumarevel, Z. Fujimoto, P. Karthe, M. Oda, H. Mizuno, P. K. R. Kumar: Structure, Vol. 12, p. 1269-1280 (2004) .
- T. S. Kumarevel, S. C. B. Gopinath, S. Nishikawa, H. Mizuno, P. K. R. Kumar: Nucleic Acids Res. Vol. 32, p. 3904-3912 (2004) .
- T. S. Kumarevel, H. Mizuno, P. K. R. Kumar: Nature, Vol. 434, p. 183-191 (2005).