

大腸菌 RNA 結合タンパク質 Hfq による遺伝子発現制御機構の解析

和地 正明

(東京工業大学大学院生命理工学研究科 生物プロセス専攻)

研究の目的

大腸菌のエンド型リボヌクレアーゼ RNase E は rRNA や tRNA といった機能性 RNA の成熟や mRNA の分解、細胞分裂タンパク質をコードする *ftsZ* mRNA のプロセシングに関わっており、大腸菌の生育に必須である。RNase E の機能は RNA 結合タンパク質 Hfq によって制御されている。このような RNase や RNA 結合タンパク質を介した転写後の発現制御機構をタンパク質生産技術に応用するために、本研究では、RNase E によって触媒される RNA 切断反応における Hfq タンパク質の役割を明らかにすることを目的とした。

方法

本研究では、*E. coli* K-12 株 HAT100 [F⁻ *ara* Δ(*lac-pro*) *thi zce-726::Tn10*]、HAT103 (the same as HAT100 but *rne-1*)、HAT113 (the same as HAT100 but *rne-1 hfq10::cat*) を用いた。それぞれの一夜培養液を希釈して寒天培地上に塗布し、30、40.5、42 で増殖の温度感受性を調べた。野生株、*rne-1* 変異株、*rne-1 hfq::cat* 二重変異株より細胞内全 RNA を抽出し、改変アガロースゲル電気泳動法及びノーザンハイブリダイゼーションにより、16S rRNA、5S rRNA、tRNA^{Phe}、*ftsZ* mRNA の成熟に対する *hfq::cat* 変異の影響を調べた。抗 FtsZ 抗体を用いたウエスタンブロッティングにより FtsZ タンパク質の合成に対する *hfq::cat* 変異の影響を調べた。

結果

rne-1 変異株 HAT103 は、40.5 以上で増殖の温度感受性を示した。そこに *hfq::cat* 変異を導入したところ、増殖の温度感受性が 40.5 ではほぼ完全に、42 でも部分的に回復した (図)。このことは、Hfq タンパク質が RNase E が関与する必須な反応に関わっていることを示唆している。

RNase E は機能性 RNA の成熟に関与しているため、我々はまず、16S rRNA、5S rRNA、tRNA^{Phe} の成熟に対する *hfq::cat* 変異の影響を調べた。*rne-1* 変異株では、40.5 ではこれ

らのRNA分子の前駆体が検出されるようになり、42 °Cではさらにその量が増大した。*hfq::cat*変異の導入はこれらのRNA分子の成熟にはほとんど影響を与えなかった。このことはHfqタンパク質がこれらの機能性RNA分子の成熟反応には関与していないことを示している。

次に、*ftsZ* mRNAのプロセッシングに対する*hfq::cat*変異の影響を調べた。*rne-1*変異株では、40.5 °C及び42 °Cにおいて、前駆体 mRNAの蓄積が見られた。*hfq::cat*変異は、これらの前駆体 mRNAのプロセッシングに対してもほとんど影響を与えなかった。続いて、FtsZタンパク質の合成を抗FtsZ抗体を用いたウエスタンブロッティングによって調べたところ、*rne-1*変異株で顕著に減少していたFtsZタンパク質の量が、*hfq::cat*変異の導入によって親株レベルにまで回復した。これらのことから、*hfq::cat*変異は前駆体 mRNAのプロセッシングには影響を与えずに、そこからの翻訳を回復させることが示された。

結論

我々は*rne-1*変異株の増殖の温度感受性が*hfq::cat*変異の導入によって抑制されることを見出した。*hfq::cat*変異は、16S rRNA、5S rRNA、tRNA^{Phe}、*ftsZ* mRNAの前駆体RNA分子のプロセッシングには影響を与えずに、前駆体*ftsZ* mRNAからの翻訳を回復させた。これらのことから、RNase E変異株の致死性は、細胞分裂タンパク質FtsZの合成低下によるものであることが示唆された。本研究により、細菌におけるmRNAのプロセッシングとRNA結合タンパク質による翻訳制御を介した新たなタンパク質の発現制御機構の存在が明らかとなった。このような転写後のタンパク質発現制御機構は、これまでに開発されてきた転写制御によるタンパク質生産技術と組み合わせて利用することができるため、既に工業生産レベルで利用されているような系への導入も可能であると思われる。

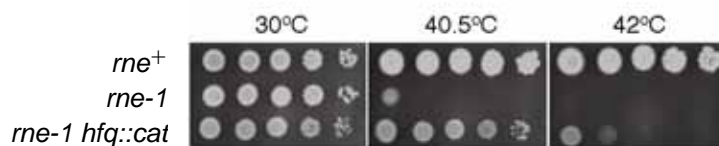


図 *hfq::cat*変異による*rne-1*変異株の温度感受性の抑制