

# 論文内容の要旨

申請者氏名 Onuma Chumsakul

細菌は生育環境中の栄養源が枯渇すると、環境ストレスに対応するための遺伝子発現が誘導され、静止期に移行する。枯草菌では、こうした遷移期における遺伝子発現の制御に、AbrB タンパク質が中心的役割を果たすことが明らかになっている。その主要な役割は、遷移期に誘導される遺伝子の発現を、対数増殖期に抑制することであると考えられており、100 以上の遺伝子とその支配下にあることが明らかになっている。しかしながら、結合配列のコンセンサス配列が不明であるなど、AbrB がどのようにターゲット部位を認識し転写制御を行うか、その分子メカニズムは不明な点が多い。また、枯草菌には AbrB のホモログである Abh が存在し、いくつかの遺伝子の発現制御に、AbrB と共に関与することが報告されているが、系統的な研究は行われていない。

我々は、ChAP-chip 法により、対数増殖期における AbrB 及び Abh のゲノム上の分布を初めて明らかにし、AbrB あるいは Abh の欠失による転写プロファイルの変化との関係を調べた。また、AbrB と Abh が細胞内で複合体を形成する可能性を検討した。その結果、野生株では、対数増殖期において、AbrB と Abh はそれぞれゲノム上の 643 及び 411 箇所結合していること、Abh の結合部位は AbrB の結合部位と一致していることが明らかとなった。この結果は、Abh の大部分は AbrB と複合体を形成していることを示唆する実験結果と一致している。さらに、Abh の欠失は AbrB の結合に影響を与えないが、AbrB の欠失は Abh の結合部位を大きく変化させた。そこで、野生株、AbrB あるいは Abh 欠失株での、両タンパク質の結合量に基づいて、結合部位のクラスター解析を行った結果、4 種の主要な結合パターンが抽出された。こうした結果は、AbrB/Abh の結合部位には、AbrB/Abh のホモ/ヘテロ複合体に対する親和性が異なる配列が存在することを示している。さらに、3 種の主要結合プロファイルについてはコンセンサス配列が同定され、それらには、2 つの TGGNA モチーフが異なる方向性と間隔で配置されていた。この結果は、*in vitro* の結合実験により同定されていた TGGNA モチーフが、細胞内でも、また、Abh についても、AbrB/Abh の結合部位の認識に重要な役割を果たすことを示唆している。また、AbrB/Abh の結合部位と AbrB あるいは Abh の欠失による転写プロファイルの変化を比較した結果、AbrB は 103 オペロンの発現を直接制御していることが示唆された。一方、Abh が直接制御していると考えられるオペロンは 7 個のみであった。この結果は、転写制御因子としては AbrB が主要な役割を果たしていることを示している。しかし、細胞内の AbrB/Abh の量比が変化すると、AbrB/Abh の結合プロファイルが変化すると考えられ、こうした機構で Abh も特定の条件下で転写制御に重要な働きを担う可能性が考えられる。同時に、多くの AbrB/Abh 結合は転写に影響しないことも示され、転写制御因子としての機能に加えて、AbrB/Abh が他の機能も担っている可能性も明らかとなった。以上のように、我々は AbrB/Abh の細胞内の機能の理解の深化に重要な結果を得た。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 Onuma Chumsakul

申請者は、枯草菌において、対数増殖期から静止期への遷移期における遺伝子発現の主要制御因子 AbrB と、そのホモログである Abh について、ChAP-chip 法によりゲノム上の分布を解析すると同時に、AbrB と Abh の欠失が転写プロファイルに与える影響、両タンパク質の細胞内での相互作用の検討を行い、以下のような新たな、重要な知見を得た。

- 1) AbrB、Abh は共通の制御ターゲットをもつことが示唆されていたが、それと一致して、細胞内で AbrB と Abh が複合体を形成することを初めて明確に示した。さらに、Abh の細胞内の分子数は AbrB の約半分であり、対数増殖期には Abh の多くは AbrB との複合体として存在するが、AbrB の分子数が減少した場合には、Abh ホモ複合体が形成されることを示唆する結果を得た。
- 2) AbrB と Abh は、対数増殖期において、それぞれ、ゲノム上の 643 及び 411 箇所と、予想より多数の部位に結合していること、Abh の結合部位は AbrB の結合部位と一致していることを明らかにした。さらに、さらに、Abh の欠失は AbrB の結合に影響を与えないが、AbrB の欠失は Abh の結合部位を大きく変化させることを見出した。
- 3) AbrB/Abh の結合部位の配列は均一ではなく、AbrB/Abh のホモ/ヘテロ複合体に対する親和性が異なる配列を含んでいることを明らかにし、さらに、そのクラスター解析により、3 種の主要結合プロファイルについてはコンセンサス配列を同定した。それらには、2 つの TGGNA モチーフが異なる方向性と間隔で配置されており、*in vitro* 系で同定されていた TGGNA モチーフの重要性を再確認した。
- 4) AbrB は 103 オペロンの発現を直接制御していること、一方、Abh が直接制御していると考えられるオペロンは 7 個のみであることを示した。この結果により、転写制御因子としては AbrB が主要な役割を果たしていることを示すと共に、両タンパク質の新たなターゲットを多数同定した。また、両タンパク質は基本的には転写抑制因子として機能するが、活性化因子としても機能することを確認した。
- 5) 同時に、多くの AbrB/Abh 結合は転写に影響しないことも明らかにし、転写制御因子としての機能に加えて、AbrB/Abh が他の機能も担っている可能性も明らかとなった。大腸菌の核様体タンパク質に相当するような機能を担っている可能性も考えられた。

このように、本論文は、新たな研究手法を駆使して AbrB/Abh 結合部位をゲノムワイドに明らかにすると共に、その DNA との相互作用を分子レベルで理解し、両タンパク質の機能の全体像を解明していく上で、大きく貢献するものである。また、AbrB/Abh は病原性細菌の病原遺伝子の発現制御にも重要な役割を担っており、本論文は、基礎科学のみならず、病原細菌の理解という側面でも意義のあるものである。よって、本論文は博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値のあるものと認める。