

Title	Physiological role of RNase LS in Escherichia coli
Author(s)	岩本, 明
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49725">https://hdl.handle.net/11094/49725</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【60】

氏名	いわもと あきら 岩本 明
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 22694 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Physiological role of RNase LS in <i>Escherichia coli</i> (大腸菌 RNase LS の生理的役割)
論文審査委員	(主査) 教授 米崎 哲朗 (副査) 教授 金澤 浩 教授 升方 久夫

## 論文内容の要旨

## 1. 研究の背景と目的

大腸菌 endoribonuclease である RNase LS は mRNA 切断活性をもち、様々な mRNA の分解を開始することができる。他の RNase と比較したとき、この RNase LS はその特徴として、著しい抗 T4 ファージ効果を示す。即ち、RNase LS は T4 ファージの後期遺伝子 mRNA を急速に分解することにより発現を抑制し、T4 の増殖を不能にしている。一方、T4 の前期遺伝子の一つである、*dmd* 遺伝子は RNase LS 活性を阻害する効果をもっており、この遺伝子が正常な場合は

RNase LS の抗 T4 ファージ効果を完全に抑制することによって増殖を可能としている。RNase LS 活性を失った大腸菌変異体の解析から、原因遺伝子として *rnlA* を特定した。しかしながら、大腸菌における RNase LS の役割・発現制御など依然として不明な点が多い。本研究では大腸菌における RNase LS の生理的役割を解明することを目的としている。

## 2. 研究の結果と考察

*rnlA* 遺伝子を欠損すると大腸菌はストレス感受性が上昇し、様々な糖に対する利用能が低下する。それぞれの異常の原因を調べたところ、前者は Crp-cAMP の過剰生産、後者は RNase E の過剰生産、が直接の原因であった。*rnlA* 変異体での Crp-cAMP 過剰発現機構は次の通りである。

(1)RNase LS 活性の喪失により、対数中期から定常期にかけて *cyaA* mRNA が蓄積することで Adenylate cyclase(CyaA)発現量の増加が起こった (2) Adenylate cyclase が増加したことで、余剰の cAMP が ATP から作られた (3) 細胞内 cAMP が必要以上に増加したことで、結果的に *crp* 遺伝子正の制御機構が過度に働き Crp 量が増加し、細胞内の Crp-cAMP が過剰に蓄積した、と考えられる。転写因子である Crp-cAMP の過剰生産は、Crp-cAMP の下流で調節される遺伝子の発現に広く影響する。RNase LS による Crp-cAMP の転写後レベルは従来の転写調節と同様に遺伝子発現制御に重要な役割を果たしていると考えられる。*rnlA* 遺伝子が変異すると RNase E 発現が増加するが、*rne* mRNA の安定化ではなく、転写の活性化が原因であった。転写因子変異体を用いた解析から、*rne* 遺伝子の正の転写因子として Fis を同定した。RNase LS が欠失すると *fis* mRNA 半減期が延びることから、*rnlA* 変異体では転写因子 Fis 発現が過剰発現していると考えられる。増加した Fis が *rne* 遺伝子の転写を活性化し、過剰発現した RNase E が糖質代謝酵素をコードする mRNA を切断することで、*rnlA* 変異体では糖質利用効率低下したと結論づけた。RNase LS が標的とする *cyaA*, *fis* mRNA は重要な転写因子であるために、*rnlA* 遺伝子の変異は遺伝子発現に広範な影響を与えたと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

大腸菌の mRNA 分解は RNase E が主役であり、殆ど全ての mRNA 分解を誘導する高い活性を有することが知られている。申請者の所属する研究室では、大腸菌から新しいエンドリボヌクレアーゼとして RNase LS を発見したが、RNase E に比べて活性は低く、標的とする mRNA も一部分に限られているため、RNase LS の存在意義や生理的意義が不明瞭であった。申請者は RNase LS 変異体が高塩濃度感受性と糖利用能の低下を示すことを発見し、これらの現象における RNase LS の役割を明らかにした。高塩濃度に対する耐性獲得の場合、RNase LS の役割は adenylate cyclase (*cyaA*) の発現抑制であり、RNase LS の欠損→標的である *cyaA* mRNA の安定化→adenylate cyclase の過剰発現→cAMP の過剰生産→転写因子 Crp の過剰発現→ストレス応答遺伝子転写用シグマ因子  $\sigma^{38}$  の発現抑制→高塩濃度に対する感受性上昇、という因果関係を明らかにした。糖代謝における役割は転写因子である Fis の発現抑制であり、

RNase LS の欠損-->Fis の過剰発現-->RNase E の過剰発現-->*gal* オペロン mRNA の分解活性上昇-->Gal タンパク質の発現抑制-->ガラクトースや乳糖の発酵能低下、という因果関係を明らかにした。このように、申請者は mRNA 分解異常と表現型の因果関係を明瞭に示すことに成功すると共に、RNase LS による mRNA 分解が転写因子や RNase E の発現に大きな影響力をもつこと、その結果として2次的に広範な遺伝子発現に深く関わることを示した。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。