

生体機能を制御する新物質硫化水素の細胞内シグナル伝達の分子機構

東京工業大学 大学院生命理工学研究科 博士課程 3年
清水 隆之

【背景・目的】

硫化水素は、哺乳動物をはじめとした多くの真核生物やその代謝能を持たない原核生物にとっては毒物である。しかし、近年、硫化水素が一酸化炭素、一酸化窒素に次ぐ第3のガス状生理活性シグナル伝達分子であることがわかってきた。その生理作用は原核生物から真核生物まで普遍的に存在し、様々な生理機能に関与する。動物では、血管新生、小胞体ストレス調節、インスリン分泌や神経伝達の調節などに関与する。細菌では、抗生物質抵抗性の調節に関与する。この生理機構において、硫化水素自体はシグナル伝達分子ではなく、活性イオウ分子種 (**Reactive Sulfur Species; RSS**) がシグナル伝達に関わると考えられている。**RSS** は非常に反応性の高い物質で、スルフヒドリルラジカル (**HS•**)、システインスルフェン酸 (**Cys-SOH**)、有機低分子ヒドロジスルフィド (パーサスルフィド)、**RSSH** (システインパーサスルフィド; **Cys-S-SH** やグルタチオンパーサスルフィド; **GSSH**)、無機パーサスルフィド分子種 (**HS_nH**) などを含む。哺乳動物細胞において、パーサスルフィド化 (**S**-スルフヒドリル化) タンパク質が同定されており、その修復経路も解明されているが、タンパク質および酵素のパーサスルフィド化の機能的影響は、まだ一般的には明らかではない。硫化水素によるシグナル伝達は、いまだ研究途上の段階にあり、詳しい制御機構については不明な点が多い。本研究では、硫化水素応答機構が発達していると考えられる紅色光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* を用いて、硫化水素応答性の制御因子を同定し、その機能解析を行うことで、細胞が硫化水素濃度を感知する分子機構の解明を試みた。

【結果・考察】

1. 硫化水素応答性転写因子 **SqrR** の同定と硫化水素応答機構

本研究において私は、紅色光合成細菌 *R. capsulatus* から、硫化水素依存的な光合成のマスターレギュレーターとして機能する硫化水素応答性転写因子 **SqrR** を同定した。*R. capsulatus* の **SqrR** は3つのシステイン残基を持ち、そのうちの2つ (**Cys41** と **Cys107**) は異なる細菌種の **SqrR** ホモログ間に保存されていた。LC-ESI-MS/MS等の解析により、**SqrR** は、**Na₂S** と酸化型グルタチオン (**GSSG**) で同時処理することで、**Cys41** と **Cys107** の間で分子内テトラスルフィド結合を形成することがわかった。テトラスルフィド結合を形成した **SqrR** は、修飾を受けていない状態と比較して、標的オペレーター領域への **DNA** 結合親和性が低く

なった。保存された 2 つのシステイン残基の各点変異株 (C41S および C107S) は、硫化水素応答能を失い、標的遺伝子の発現を常に抑制していた。溶液中において Na_2S は速やかに HS^- となり、共存している GSSG は、 HS^- によって酸化能力が高いグルタチオンパースルフィド (GSSH) に変換されることが知られている。これらの結果から SqrR は、硫化水素依存的に生成される GSSH をはじめとした活性イオウ分子種 (RSS) を認識し、硫化水素代謝に必要な遺伝子発現を誘導するリプレッサーとして機能していることがわかった (図 1)。

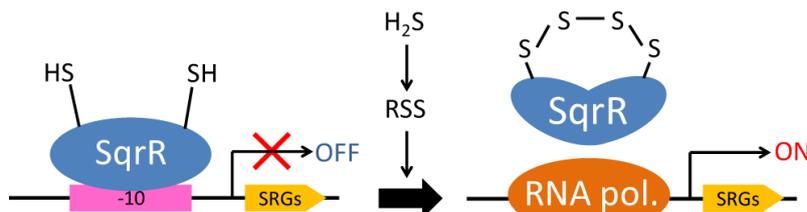


図 1 SqrR による硫化水素に応答した遺伝子発現制御機構のモデル

硫化水素非存在下では、 SqrR の Cys41 と Cys107 は還元状態にある。この状態では、 SqrR はターゲット遺伝子のオペレーター領域に結合し、硫化水素応答性遺伝子群 (SRGs) の発現を抑制している。硫化水素存在下では、硫化水素によって産生された RSS によって Cys41 と Cys107 の間でテトラスルフィド結合が形成され、 SqrR の DNA 結合能が抑制される。その結果、プロモーター領域に RNA ポリメラーゼが結合し、遺伝子発現が促進される。

2. SqrR に結合するヘムの役割

SqrR が、試験管内においてヘムを結合することを明らかにした。 SqrR の標的オペレーターへの DNA 結合親和性は、ヘムが結合することで低下した。このことから SqrR は、DNA 結合能力を硫化水素濃度だけでなく、ヘム濃度にも依存させることで、 RSS 代謝機構の制御のダイナミクスをより向上させている可能性が示唆された (図 2)。本研究の遂行により、硫化水素代謝に関わる遺伝子群の硫化水素依存的な転写制御の分子機構が明らかとなった。

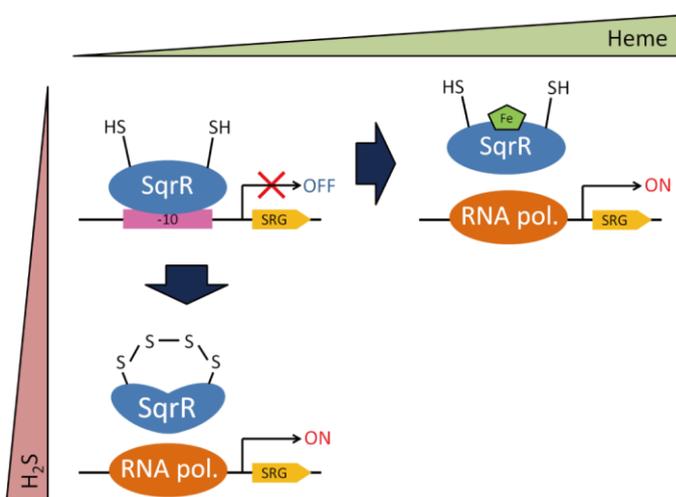


図 2 SqrR による硫化水素とヘムに応答した遺伝子発現制御機構のモデル

硫化水素非存在下では、ヘム非結合型が優勢状態にある。硫化水素濃度が上昇すると、テトラスルフィド結合形成によりオペレーター領域への DNA 結合親和性が低下し、標的遺伝子の転写が促進される。それとは独立して、細胞内の遊離ヘム濃度が上昇すると、 SqrR にヘムが結合することで、結合親和性が低下し、転写が促進される。