

# Hfq 依存性小分子 RNA の作動原理

森田 鉄兵

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

## 総 説

## Hfq 依存性小分子 RNA の作動原理

森田 鉄兵

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

キーワード： 小分子 RNA, sRNA, Hfq, 転写後遺伝子発現調節, 細菌

## 要 旨

遺伝子発現調節の分子機構、およびその生物学的意義の解明は、生命科学における重要な研究課題である。近年、様々な生物種において、転写後における遺伝子発現調節の分子機構、および生物学的意義が明らかになりつつある。中でも小分子 RNA による mRNA の発現調節は、注目されている研究分野である。大腸菌、サルモネラ菌に代表されるグラム陰性菌には、RNA シャペロンである Hfq タンパク質依存的に機能する小分子 RNA が存在する。小分子 RNA は、Hfq を介して標的にする mRNA と塩基対を形成し、標的 mRNA の発現を調節する。小分子 RNA は細胞の恒常性維持や環境適応に貢献し、また病原性細菌による感染症にも関わるため、重要な機能分子に位置づけられている。本稿では、Hfq 依存性小分子 RNA のこれまでの研究を総括する。

## 1. はじめに

遺伝子情報を mRNA へと転写した後、タンパク質へと翻訳する一連の過程（遺伝子発現）は、生物が共通に持つ原理に基づく現象である。またこの過程は、生物を取り巻く環境に応答して調節されている。1961年に発表された F. Jacob と J. Monod の “Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of Proteins” は、遺伝子発現の調節機構を示した最初の論文である<sup>1)</sup>。この発見を契機に、様々な生物種において、遺伝子発現調節の分子機構、およびその生物学的意義が解き明かされてきた。Jacob と Monod が示したラクトースオペロンの発現調節の調節因子が LacI タンパク質であったこともあり、タンパク質が調節因子として機能する転写開始制御の研究が進められた。

1980年代以降、転写後における発現調節の研究がさかんに行われるようになった。中でも、RNA を調節因子とした転写後制御の研究は、精力的に行われてきた研究分野の1つである。2006年にノーベル賞を受賞した線虫における外来二重鎖 RNA による遺伝子発現抑制系をはじめ、RNA による転写後遺伝子発現調節は、原核生物から高等真核生物に至るまでほとんどの生物種において発見された。これらのことから、現在では、転写開始制御と同様に、RNA による転写後制御は普遍的な生物現象であると考えられている。RNA による転写後制御は、高等真核生物においては発生過程、原核生物においては病原性の調節に重要な役割を果たしている<sup>2,3)</sup>。また、siRNA (small interfering RNA) や CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeat) 等、遺伝子改変ツールとしても有用である。これらのことから、RNA による転写後制御は、現在においてもなお主要な研究課題に位置づけられている。

転写後制御の調節因子である RNA の中で、主にグラム陰性菌において、Hfq タンパク質を介して機能する小分子 RNA が存在する<sup>4)</sup>。本稿では、この Hfq 依存型小分子 RNA を small RNA (sRNA) と表記する。sRNA の研究は、大腸菌、サルモネラ菌をモデル生物として進められ、それぞれにおいて、少なくとも100を超える sRNA の存在が明らかになっている<sup>4)</sup>。sRNA は、標的にする

mRNA との塩基対形成を介して、mRNA の発現を抑制/促進することで、細菌の環境適応や恒常性の維持、また病原性の調節に重要な役割を果たす。本稿では、sRNA 研究のこれまでの流れを概説する。なお、遺伝子名 (例 *sgrS*, *hfq*) を先頭小文字・斜体により、sRNA 名 (例 SgrS), タンパク質名 (Hfq) を先頭大文字・正体により表記する。

## 2. sRNA による制御ネットワーク

RNA が遺伝子発現調節に関わる可能性は、上述した F. Jacob と J. Monod の論文で議論されている<sup>1)</sup>。実際には、ラクトースオペロン発現調節の調節因子は LacI タンパク質であったため、この可能性は排除された。しかしながら、1984年、大腸菌において、遺伝子発現の調節因子として機能する RNA の存在が明らかにされ<sup>5)</sup>、F. Jacob と J. Monod が考えた調節因子として機能する RNA の存在が証明された。Mizuno らにより発見された RNA は MicF と名付けられ、その後の研究より、MicF も Hfq に依存して機能する sRNA であることが明らかになった<sup>5)</sup>。

sRNA の標的にする mRNA の多くは、代謝経路に関わるタンパク質や膜タンパク質、及びその発現に関わるタンパク質をコードする<sup>4)</sup>。MicF sRNA も、外膜タンパク質をコードする *ompF* mRNA の発現を調節する<sup>5)</sup>。DNA を制御対象とする転写開始制御とは異なり、sRNA による転写後制御は mRNA を制御対象とするため、迅速に標的の発現を調節することが可能であり、より早く環境変化に適応できるという利点を持つ。また、タンパク質が DNA と結合することに比べ、調節因子である sRNA が RNA 間の塩基対形成により標的 mRNA と結合することは、標的にする mRNA の許容範囲を広くし、個々の標的 mRNA に対する親和性を変化させるという利点を想起させる。すなわち、1つの sRNA が同時に複数の mRNA を標的にし、またそれぞれの制御出力を目的に応じた強度にすることを可能にする。例えば、鉄イオン枯渇時に発現する RyhB sRNA は、15以上の mRNA を第一義的な標的にし、それらの発現を調節するが、RyhB sRNA とそれぞれの mRNA の間で形成される塩基対は同一では

ない<sup>6)</sup>。このような性質により、sRNA 制御系は、細胞内で巧妙な遺伝子発現調節ネットワークを形成している。

SgrS sRNA は、解糖系の中間代謝産物であるグルコースリン酸の集積に反応して発現が誘導される<sup>7)</sup> (図 1A)。グルコースリン酸は DNA などに悪影響を及ぼすため、過剰な集積は細胞にとって有害である<sup>7)</sup>。SgrS sRNA は、グルコース取り込みタンパク質をコードする *ptsG* mRNA や、マンノース取り込みタンパク質をコードする *manX* mRNA の発現を抑制する<sup>7-9)</sup>。その一方で、グルコースリン酸を脱リン酸化する活性を持つタンパク質をコードする *yigL* mRNA の発現を促進する<sup>10,11)</sup>。これらの調節により、SgrS sRNA は、グルコースリン酸の集積を緩和させるように細胞内環境を変化させる。また、SgrS sRNA は、サルモネラ菌の病原性因子をコードする *sopD* mRNA を抑制する<sup>12)</sup>。これらのことは、SgrS sRNA が、グルコースリン酸集積という糖代謝異常と病原性の調節を結びつける情報伝達ツールとして機能している可能性を示す。

1つのシグナルに対して、複数の sRNA が同時に作動する場合がある。浸透圧の変化などにより外膜がストレスを受けると、少なくとも3種類の sRNA (MicA sRNA, MicL sRNA, RybB sRNA) の発現が、膜ストレス時に活性化する  $\sigma^F$  因子依存的に誘導される<sup>13)</sup> (図 1B)。これらの sRNA は、主要外膜タンパク質をコードする *ompA* mRNA を始めとした 20 以上の外膜タンパク質の mRNA の発現を抑制し、浸透圧ストレスに適応するために外膜環境を整える。また興味深いことに、MicA sRNA, RybB

sRNA をコードする遺伝子領域をゲノム上から欠失させると、通常培養条件下においても外膜ストレスが生じる<sup>14)</sup>。このことは、これらの sRNA が、浸透圧ストレスに対する適応作用に加え、細胞の恒常性維持にも貢献していることを示している。

近年になって、sRNA を標的にする sRNA が報告されている。SroC sRNA は、GcvB sRNA を抑制する<sup>15)</sup> (図 1C)。GcvB sRNA は細胞が富栄養の条件下で発現しており、アミノ酸の生合成や取り込みに関わるタンパク質をコードする一連の mRNA の発現を調節する<sup>16)</sup>。SroC sRNA は、GcvB sRNA と塩基対を形成し、GcvB sRNA と標的 mRNA との塩基対形成を阻害する。また SroC sRNA の発現は GcvB sRNA により制御されており、このことから SroC sRNA/GcvB sRNA 間で制御フィードバックが形成されている点は興味深い。さらに最近、未成熟の tRNA フラグメントが sRNA を標的にすることが明らかになった<sup>17)</sup>。未成熟の tRNA フラグメントは一部の sRNA と塩基対を形成し、sRNA の機能を阻害する。このように、sRNA の機能が sRNA をはじめとする RNA により制御されることで、より巧妙な制御ネットワークが形成されている。

### 3. Hfq の役割

Hfq は、RNA フェージである Q $\beta$  フェージの感染に必要な大腸菌宿主因子 (host factor Q $\beta$  phage) として、1960年代に同定されたタンパク質である。1990年代になり、大

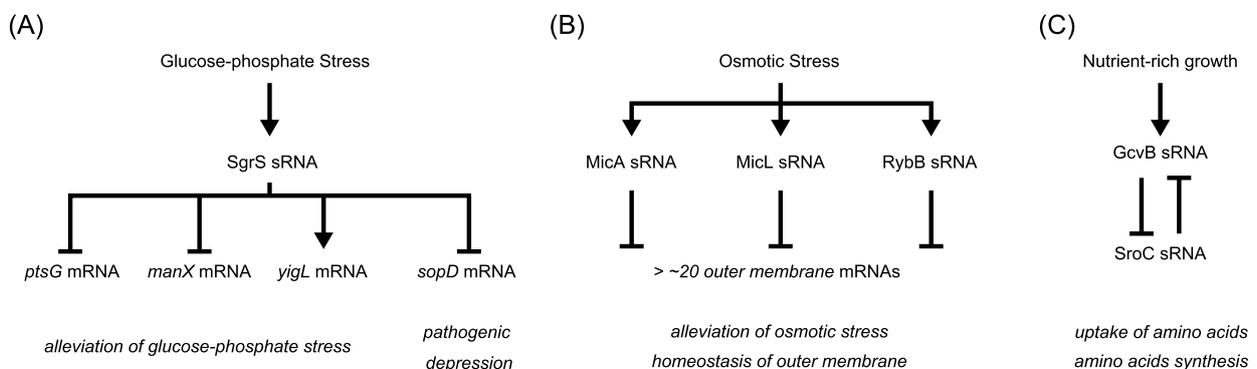


図 1 sRNA による制御ネットワーク

- (A) グルコースリン酸ストレス下における SgrS sRNA の生理学的役割。  
 (B) 浸透圧ストレス下において機能する 3 種類の sRNA の生理学的役割。  
 (C) SroC sRNA による GcvB sRNA の制御とその意義。

腸菌において、Hfq が種々のストレス時に活性化する転写因子をコードする *rpoS* mRNA の発現を転写後に調節する機能を持つことが発見された<sup>18,19)</sup>。その後 2000 年代に入り、OxyS sRNA, Spot42 sRNA などの sRNA が、Hfq を介して標的 mRNA と結合し、標的 mRNA の発現を調節することが示された<sup>20,21)</sup>。上述した *rpoS* mRNA の発現調節においても、DsrA sRNA など 3 種類の sRNA がそれぞれ Hfq と共に関わることが明らかになった<sup>22)</sup>。Hfq は、真核生物にも保存されている RNA 結合モチーフである Sm 様タンパク質ファミリーに属し、ホモ 6 量体を機能単位として、その中に 3 つの RNA 結合部位を備える<sup>23)</sup> (図 2A)。<sup>①</sup>は近位面であり、3' 末端を持つポリ U 配列に結合する。<sup>②</sup>は遠位面であり、A-R-N モチーフ (R: プリン塩基, N: 全ての塩基) に結合する。<sup>③</sup>は側面 (リム) であり、U に富む配列に結合する。

sRNA による標的 mRNA の発現調節における Hfq の第一義的な役割は、sRNA/ 標的 mRNA 間の塩基対の形成を促進させることである<sup>24)</sup> (図 2B)。Hfq は sRNA に結合し、多くの場合 sRNA の二次構造を変化させる。同様に、Hfq は sRNA が標的にする mRNA にも結合し、二次構造の変化をもたらす。つまり、Hfq による sRNA/ 標的 mRNA 間の塩基対形成の促進作用とは、Hfq がそれぞれの RNA の二次構造をお互いに結合しやすいように変化させること、すなわち RNA シャペロン活性であると考えられる。一方で、Hfq の機能単位であるホモ 6 量体に存在する 3 つの RNA 結合部位により、sRNA、及び標

的 mRNA が 1 つの Hfq ホモ 6 量体に同時に結合すると考えられている。このことより、sRNA/ 標的 mRNA の細胞内分子濃度が Hfq 上で局所的に高められ、結果として塩基対形成が促進されるというモデルが提案されている。これら 2 つの促進作用のあり方は排他的ではなく、Hfq が持つ RNA シャペロン作用、及び RNA 集積場としての役割が協調するものと考えられている<sup>24)</sup>。また、一部の sRNA 制御においては、リムが塩基対形成の促進作用に重要であることが報告されているが、リムによる塩基対促進作用の機構の解明にはさらなる研究が必要である<sup>25)</sup>。

sRNA 制御系において Hfq は他にもいくつかの役割を持つ。その 1 つは、sRNA の安定性を維持することである<sup>26)</sup>。一般的に、sRNA は標的 mRNA と塩基対を形成するまで Hfq により保護されている。一方で、標的 mRNA と塩基対を形成した後は、標的 mRNA の分解と同時に、sRNA も分解される<sup>26)</sup>。標的 mRNA の分解に共役した sRNA 分解は、標的 mRNA の分解と同様に、Hfq と結合するエンドリボヌクラーゼである RNase E により生じる<sup>26~28)</sup>。RNase E は全長 1061 アミノ酸からなるタンパク質であり、N 末端領域にエンドリボヌクラーゼの活性部位、C 末端領域には他のタンパク質との相互作用の足場となる部位が存在する<sup>29)</sup>。Hfq は、RNase E の C 末端領域との相互作用により、標的 mRNA/sRNA 上に RNase E をリクルートさせる役割を担う<sup>27,30)</sup>。

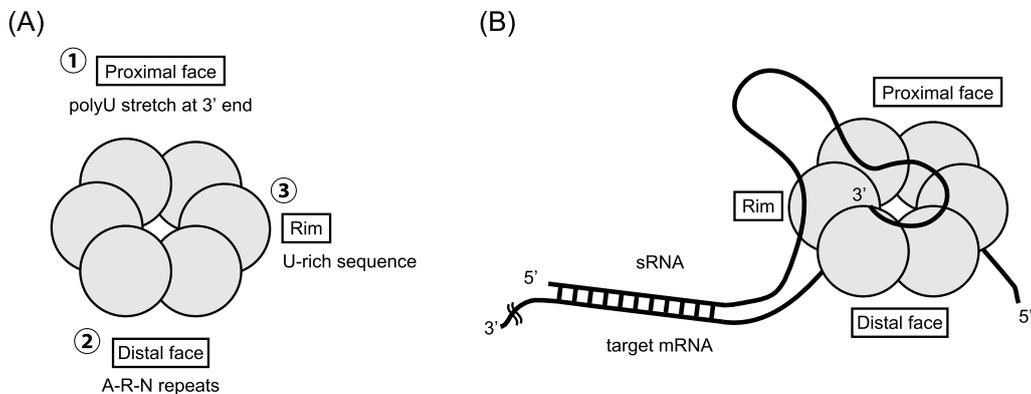


図 2 Hfq の RNA 結合面、及び Hfq による塩基対形成促進モデル

(A) Hfq ホモ 6 量体における RNA 結合部位と結合する RNA の種類。  
(B) Hfq による sRNA/ 標的 mRNA 間の塩基対形成の促進モデル。

#### 4. sRNA による標的 mRNA の発現調節機構

sRNA による標的 mRNA の発現調節の分子機構は、一般的に sRNA/標的 mRNA 間に形成される塩基対を契機とする。また、多くの場合、sRNA/標的 mRNA 間に形成される塩基対の位置が標的 mRNA の翻訳開始領域近傍であるのに対して、それ以外の位置で塩基対を形成する sRNA も存在する。この位置の違いにより、標的 mRNA の発現調節の出力が決定される。以下に具体的な例を挙げ、sRNA による標的 mRNA の発現調節の分子機構について俯瞰したい。

典型的な sRNA の 1 つである SgrS sRNA は、*ptsG* mRNA の発現を抑制する。この発現抑制は、SgrS sRNA と *ptsG* mRNA の 5' 非翻訳領域 (5' untranslated region; 5'UTR) との間に形成される塩基対により、*ptsG* mRNA の翻訳が阻害されることに起因する<sup>31)</sup> (図 3A)。通常、リボソームが標的 mRNA の 5'UTR に進入しているため、SgrS sRNA が *ptsG* mRNA と塩基対を形成するためには、Hfq による塩基対形成の促進作用が必要である<sup>32)</sup>。Hfq は、sRNA/標的 mRNA 間の塩基対形成を劇的に促進する機能を持つ<sup>33)</sup>。また、Hfq と結合する主要エンドリボヌクレアーゼである RNase E により、SgrS sRNA に標的化された *ptsG* mRNA の分解が誘起される<sup>27,28)</sup>。このように、sRNA による標的 mRNA の発現抑制系の多くで、塩基対による標的 mRNA の翻訳阻害に加え、sRNA/Hfq/RNase E による標的 mRNA 分解、及び sRNA 分解の促

進が起こる<sup>26,34)</sup>。興味深いことに、Hfq との結合能を失った変異 RNase E が発現する細胞においても、sRNA により標的 mRNA の発現は抑制される<sup>35)</sup>。また、標的 mRNA 上の RNase E の認識配列を欠失した変異 mRNA の発現も sRNA により抑制される<sup>36)</sup>。これらのことは、sRNA による標的 mRNA の発現抑制において、mRNA 分解ではなく、塩基対による標的 mRNA の翻訳阻害が第一義的であることを示す。

その一方で、上述とは部分的に異なる機構で、標的 mRNA を抑制する sRNA が存在する。MicC sRNA は、外膜タンパク質をコードする *ompD* mRNA のコーディング領域、すなわち翻訳開始領域から離れた下流の領域と塩基対を形成し、*ompD* mRNA を抑制する<sup>37)</sup>。この抑制系において、MicC は *ompD* mRNA の翻訳を阻害せず、RNase E による *ompD* mRNA の分解により *ompD* mRNA の発現を抑制する。すなわち、MicC sRNA による *ompD* mRNA の発現抑制系においては、一般的な sRNA による発現抑制系とは異なり、標的 mRNA の分解促進が第一義的な要因である。また、Spot42 sRNA/Hfq は翻訳阻害を介して、代謝酵素をコードする *sdhC* mRNA の発現を抑制するが、この翻訳阻害の機能実体は Spot42 sRNA/*sdhC* mRNA 間に形成される塩基対ではなく、Spot42 sRNA と共に *sdhC* mRNA 上に局在する Hfq である<sup>38)</sup>。

さらに、sRNA の中には、標的 mRNA の発現を促進させる sRNA が存在する。DsrA sRNA は、*rpoS* mRNA を標的として、その発現を促進させる<sup>22)</sup> (図 3B)。通常、

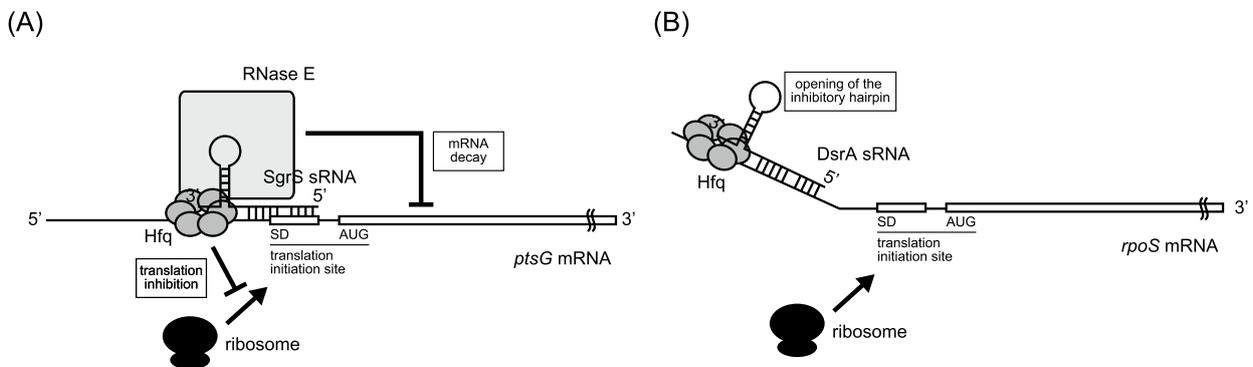


図 3 sRNA による標的 mRNA の発現調節モデル

(A) SgrS sRNA による標的 *ptsG* mRNA の発現抑制機構。  
(B) DsrA sRNA による標的 *rpoS* mRNA の発現促進機構。

*rpoS* mRNA の 5'UTR は翻訳開始領域が閉じた構造を形成しており、発現が抑制されている。DsrA が *rpoS* mRNA の 5'UTR に結合すると、この閉鎖構造が破壊され、リボソームが mRNA 上に進入することが可能になり、結果 *rpoS* mRNA の発現は促進される。加えて、DsrA sRNA/Hfq が転写終結因子である Rho を阻害し、*rpoS* mRNA の転写伸長を促進させることが明らかになった<sup>39)</sup>。通常、*rpoS* の転写は、コーディング領域にある Rho 結合領域に Rho が進入し不完全な位置で終結するが、DsrA sRNA/Hfq により Rho の作用が阻害され、結果として完全な mRNA が産生される。Hfq が直接 Rho の活性を抑制するという報告もあるが<sup>40)</sup>、DsrA sRNA がどのようにして Rho による不完全な位置での転写終結を阻害するかについては今後の研究課題である。このように、翻訳促進、及び転写伸長の作用により、DsrA sRNA は *rpoS* mRNA の発現を促進させる。また他の例として、GadX sRNA は酸耐性に関わる転写因子をコードする *gadY* mRNA の 3'UTR に結合し、3' エキソリボヌクレアーゼから mRNA を保護することで *gadY* mRNA の発現を促進する<sup>41)</sup>。

## 5. sRNA の機能構造と生合成

### (1) sRNA の機能構造

sRNA の長さは 50~300 塩基と様々である一方で、特徴的な機能領域を保持する<sup>42,43)</sup>。それらは、①標的 mRNA との塩基対形成領域、②転写終結領域、③ Hfq 結合領域である (図 4)。標的 mRNA との塩基対形成領域は、多くの場合、sRNA の 5' 側に位置する<sup>4,13)</sup>。sRNA と標的 mRNA との間には 10~30 塩基長の部分的な塩基対が形成される配列が存在し、その中に塩基対形成に必要なシード領域 (7 塩基程度) を含む。RybB sRNA のシード領域内の 2 番目の C は、複数存在する標的 mRNA との塩基対形成に重要な役割を担う<sup>44)</sup>。また、SgrS sRNA は、176 番目、及び 178 番目の G を含む 6 塩基領域が、標的にする *ptsG* mRNA との塩基対形成においてシード領域としての役割を担う<sup>33)</sup> (図 4A)。このシード領域を含めた 14 塩基領域 (12 塩基対) が、*ptsG*

mRNA の翻訳抑制に十分な領域である<sup>45)</sup> (図 4A)。興味深いことに、SgrS sRNA が *manX* mRNA や *yigL* mRNA を標的にする場合には、*ptsG* mRNA との塩基対形成とは異なる領域で塩基対を形成する<sup>10)</sup> (図 4A)。このような塩基対形成領域の位置の違いにより、同一の sRNA により発現調節を受ける標的 mRNA 発現量の変化に差異が生み出されると考えられる。

sRNA は、タンパク質をコードする mRNA と同様に、典型的な Rho 因子非依存型転写終結領域 (ターミネーター) を持つ (図 4B)。Rho 因子非依存型ターミネーターは、DNA 上で GC に富むパルンドローム配列、及びそれに続くポリ T ストレッチにより構成される。また、sRNA 遺伝子が保持する Rho 因子非依存型ターミネーターは、ポリ T ストレッチが 7 塩基以上であるという特徴を持つ<sup>42)</sup>。これは、Hfq 結合領域に、3' 末端の 7 塩基以上の U が必要であるということに起因する。

sRNA の Hfq 結合領域は、ヘアピン構造直前の U に富む配列、及び 3' 末端の 7 塩基以上のポリ U 配列で構成される<sup>42,43)</sup> (クラス I, 図 4B)。また一部の sRNA は、ヘアピン構造直前に、U に富む配列の代わりに A-R-N モチーフを持つ<sup>46)</sup> (クラス II)。これらクラス II に属する sRNA は、クラス I とは異なる部位で Hfq と結合し、また標的にする mRNA が備える配列上の特徴も異なる<sup>24)</sup>。クラス I に属する sRNA により制御される mRNA は、Hfq 結合領域として、塩基対形成領域の近傍に A-R-N モチーフを持つ。クラス II に属する sRNA により制御される mRNA は、Hfq 結合領域として、塩基対形成領域の近傍に AU に富む配列を持つ。

### (2) sRNA の生合成

sRNA をコードする遺伝子の多くは独自のプロモーターを持ち、ストレスや生理条件の変化に伴い、転写が誘導される。SgrS sRNA は、グルコース 6 リン酸などのグルコースリン酸が細胞内に集積される条件下において、転写因子である SgrR タンパク質により転写が誘導される<sup>7)</sup>。また、鉄イオンが枯渇する条件下においては、リプレッサーである Fur タンパク質の活性が低下し、RybB sRNA

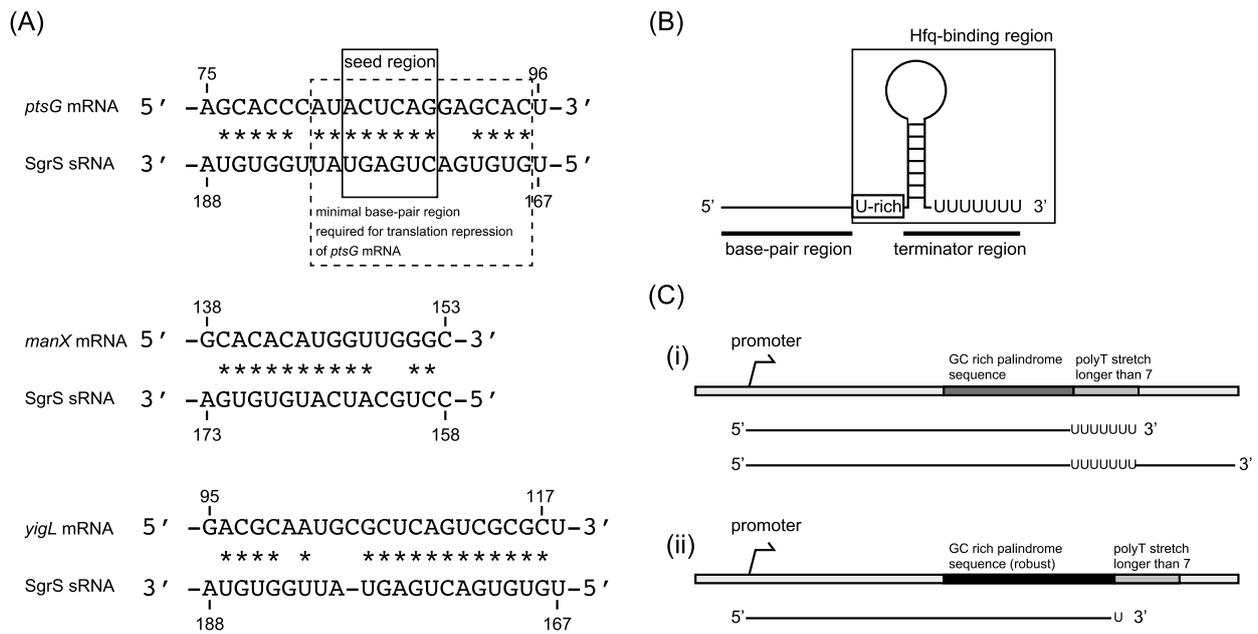


図 4 sRNA の機能構造と生成

(A) SgrS と標的 mRNA 間に形成される塩基対。  
 (B) sRNA は塩基対形成領域、Hfq 結合領域、および転写終結領域により構成される。  
 (C) sRNA 生成における転写終結の役割。

の発現が誘導される<sup>6)</sup>。一方で、転写終結においては、sRNA 遺伝子は、7 塩基以上のポリ T ストレッチを持つ特徴的な Rho 因子非依存的ターミネーターを持つ。これは、Hfq との機能的結合に 3' 末端の 7 塩基以上のポリ U 鎖が必要であることに起因する。そのため、このような特徴的なターミネーターを保持していても、RNA ポリメラーゼがターミネーターを読み飛ばした場合には、転写産物は sRNA として機能しない<sup>47)</sup> (図 4C (i))。これは、読み飛ばしにより本来 3' 末端に配置されるべき 7 塩基以上のポリ U 鎖が転写産物の中に内包されてしまい Hfq と結合できなくなるためである。一方で、3' 末端のポリ T ストレッチの途中で転写が終結した場合にも、その転写産物は 3' 末端に 6 塩基以下の短いポリ U 鎖を持つため Hfq と結合せず、結果として sRNA として機能しない。最近、Rho 因子非依存的ターミネーターのヘアピン構造の安定性が高い場合に、ターミネーターに 7 塩基以上の T ストレッチが保持されていても、短いポリ U 鎖を 3' 末端を持つ転写産物が産生されることが明らかになった<sup>48)</sup> (図 4C (ii))。また興味深いことに、sRNA の転写が誘導されるようなストレス条件下においては、転写終結効率が上昇す

る<sup>47,48)</sup>。これらのことから、sRNA のターミネーターは、ストレス条件下においても機能的な sRNA (3' 末端に 7 塩基以上のポリ U 鎖を持つ) を産生できるように、ステムループ構造が適度な安定性を持つように設計されていると考えることができる。

近年になって、mRNA の 3' 末端領域が切り出され、sRNA として機能する例が報告され始めた<sup>49)</sup>。ArcZ sRNA は、mRNA として転写された後に、5' 末端のプロセシングにより切り出されて産生される<sup>50)</sup>。この 5' プロセシングは、Hfq/RNase E により行われる。このことは、5' プロセシングを担う複合体が成熟化した sRNA を取り込み、その後の遺伝子発現の調節因子としての複合体になることを示唆する。これは、真核生物における miRNA/RISC (RNA induced silencing complex) の形成に類似するため、機能進化的観点においても注目すべき点である<sup>51)</sup>。一方で、3' 末端のプロセシングにより産生される sRNA は未だ発見されていない。これは、Hfq 結合領域が 3' 末端に位置し、転写終結による形成が重要であることに起因すると考えられる。

## 6. おわりに

sRNA が Hfq と協調して標的 mRNA の発現を調節することが発見されてから約 20 年の時が経ち、sRNA による発現調節の分子機構や sRNA の性質の大部分が明らかになりつつある。現在では、次世代シーケンサ等を用いた解析手法の発達や普及により、細胞内に存在する塩基対を網羅的に解析する手法も開発され<sup>52,53)</sup>、sRNA 制御の研究はさらに加速すると考えられる。そのような状況下において、sRNA 制御が細菌の恒常性維持や環境応答に重要な役割を持つだけでなく、感染症に関連する事例も明らかになりつつある<sup>3)</sup>。また、腸内フローラなど人間と細菌との関係性が改めて注目されているなかにおいて、sRNA 研究の医学的な役割も認められる。さらに、遺伝子改変ツールとしての素地を持つ sRNA は、合成生物学的な観点からも注目される対象であると考えられる。基礎的観点においては、細菌種間での比較、特にグラム陽性菌での sRNA 研究は興味深い。グラム陽性菌においては、Hfq ホモログが存在するにも関わらず、sRNA がほとんど機能していないと考えられている。近年、グラム陽性菌、陰性菌の間での Hfq リムを構成するアミノ酸の違いが Hfq の RNA との結合に影響しているという報告が為された<sup>54)</sup>。また、Hfq との結合に重要な sRNA の 3' 末端の形成、すなわち転写終結様式も細菌種間で異なっていると考えられている。これらの違いを明確にすることは、細菌における sRNA の原理解明において重要な研究課題であると考ええる。

## 謝 辞

本稿で紹介した筆者が携わった大腸菌 sRNA 制御に関わる研究は、名古屋大学大学院理学研究科、及び鈴鹿医療科学大学薬学部において、饗場弘二教授のもとで行われました。共同研究者の方々に、心よりお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Jacob, F. & Monod, J: Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J Mol Biol* 3, 318-356, (1961).
- 2) Iwasaki, Y., Siomi, MC., & Siomi, H: PIWI-Interacting RNA: Its biogenesis and Functions. *Annu Rev Biochem* 84, 405-433, (2015).
- 3) Papenfort, K. & Vogel, J: Small RNA functions in carbon metabolism and virulence of enteric pathogens. *Front Cell Infect Microbiol* 4, 91, (2014).
- 4) Gottesman, S. & Storz, G: Bacterial small RNA regulators: versatile roles and rapidly evolving variations. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 3, (2011).
- 5) Mizuno, T., Chou, M. Y. & Inouye, M: A unique mechanism regulating gene expression: translational inhibition by a complementary RNA transcript (micRNA). *Proc Natl Acad Sci U S A* 81, 1966-1970, (1984).
- 6) Masse, E., Salvail, H., Desnoyers, G., *et al*: Small RNAs controlling iron metabolism. *Curr Opin Microbiol* 10, 140-145, (2007).
- 7) Vanderpool, C. K. & Gottesman, S: Involvement of a novel transcriptional activator and small RNA in post-transcriptional regulation of the glucose phosphoenolpyruvate phosphotransferase system. *Mol Microbiol* 54, 1076-1089, (2004).
- 8) Kimata, K., Tanaka, Y., Inada, T., *et al*: Expression of the glucose transporter gene, *ptsG*, is regulated at the mRNA degradation step in response to glycolytic flux in *Escherichia coli*. *EMBO J* 20, 3587-3595, (2001).
- 9) Morita, T., El-Kazzaz, W., Tanaka, Y., *et al*: Accumulation of glucose 6-phosphate or fructose 6-phosphate is responsible for destabilization of glucose transporter mRNA in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 278, 15608-15614, (2003).
- 10) Sun, Y. & Vanderpool, C. K: Physiological consequences of multiple-target regulation by the small RNA SgrS in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 195, 4804-4815, (2013).

- 11) Papenfort, K., Sun, Y., Miyakoshi, M., *et al*: Small RNA-mediated activation of sugar phosphatase mRNA regulates glucose homeostasis. *Cell* 153, 426-437, (2013).
- 12) Papenfort, K., Podkaminski, D., Hinton, J. C., *et al*: The ancestral SgrS RNA discriminates horizontally acquired *Salmonella* mRNAs through a single G-U wobble pair. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 757-764, (2012).
- 13) Wagner, E. G. & Romby, P: Small RNAs in bacteria and archaea: who they are, what they do, and how they do it. *Adv Genet* 90, 133-208, (2015).
- 14) Papenfort, K. Pfeiffer, V., Mika, F., *et al*: SigmaE-dependent small RNAs of *Salmonella* respond to membrane stress by accelerating global *omp* mRNA decay. *Mol Microbiol* 62, 1674-1688, (2006).
- 15) Miyakoshi, M., Chao, Y. & Vogel, J: Cross talk between ABC transporter mRNAs via a target mRNA-derived sponge of the GcvB small RNA. *EMBO J* 34, 1478-1492, (2015).
- 16) Sharma, C. M., Darfeuille, F., Plantinga, T. H., *et al*: A small RNA regulates multiple ABC transporter mRNAs by targeting C/A-rich elements inside and upstream of ribosome-binding sites. *Genes Dev* 21, 2804-2817, (2007).
- 17) Lalaouna, D., Carrier M. C., Semsey, S., *et al*. A 3' external transcribed spacer in a tRNA transcript acts as a sponge for small RNAs to prevent transcriptional noise. *Mol Cell* 58, 393-405, (2015).
- 18) Muffler, A., Fischer, D. & Hengge-Aronis, R: The RNA-binding protein HF-I, known as a host factor for phage Qbeta RNA replication, is essential for *rpoS* translation in *Escherichia coli*. *Genes Dev* 10, 1143-1151, (1996).
- 19) Brown, L. & Elliott, T: Efficient translation of the RpoS sigma factor in *Salmonella typhimurium* requires host factor I, an RNA-binding protein encoded by the *hfq* gene. *J Bacteriol* 178, 3763-3770, (1996).
- 20) Zhang, A., Wassarman, K. M., Ortega, J., *et al*: The Sm-like Hfq protein increases OxyS RNA interaction with target mRNAs. *Mol Cell* 9, 11-22, (2002).
- 21) Moller, T., Franch, T., Hojrup, P., *et al*: Hfq: a bacterial Sm-like protein that mediates RNA-RNA interaction. *Mol Cell* 9, 23-30, (2002).
- 22) Majdalani, N., Vanderpool, C. K. & Gottesman, S: Bacterial small RNA regulators. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 40, 93-113, (2005).
- 23) Weichenrieder, O: RNA binding by Hfq and ring-forming (L)Sm proteins: a trade-off between optimal sequence readout and RNA backbone conformation. *RNA Biol* 11, 537-549, (2014).
- 24) Updegrove, T. B., Zhang, A. & Storz, G: Hfq: the flexible RNA matchmaker. *Curr Opin Microbiol* 30, 133-138, (2016).
- 25) Panja, S., Schu, D. J. & Woodson, S. A: Conserved arginines on the rim of Hfq catalyze base pair formation and exchange. *Nucleic Acids Res* 41, 7536-7546, (2013).
- 26) Masse, E., Escorcia, F. E. & Gottesman, S: Coupled degradation of a small regulatory RNA and its mRNA targets in *Escherichia coli*. *Genes Dev* 17, 2374-2383, (2003).
- 27) Morita, T., Maki, K. & Aiba, H: RNase E-based ribonucleoprotein complexes: mechanical basis of mRNA destabilization mediated by bacterial noncoding RNAs. *Genes Dev* 19, 2176-2186, (2005).
- 28) Morita, T., Kawamoto, H., Mizota, T., *et al*: Enolase in the RNA degradosome plays a crucial role in the rapid decay of glucose transporter mRNA in the response to phosphosugar stress in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 54, 1063-1075, (2004).
- 29) Vogel, J. & Luisi, B. F: Hfq and its constellation of RNA. *Nat Rev Microbiol* 9, 578-589, (2011).
- 30) Ikeda, Y., Yagi, M., Morita, T., *et al*: Hfq binding at RhlB-recognition region of RNase E is crucial for the rapid degradation of target mRNAs mediated by sRNAs in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 79, 419-432, (2011).
- 31) Maki, K., Uno, K., Morita, T., *et al*: RNA, but not protein partners, is directly responsible for translational

- silencing by a bacterial Hfq-binding small RNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 10332-10337, (2008).
- 32) Kawamoto, H., Morita, T., Shimizu, A., *et al*: Implication of membrane localization of target mRNA in the action of a small RNA: mechanism of post-transcriptional regulation of glucose transporter in *Escherichia coli*. *Genes Dev* 19, 328-338, (2005).
- 33) Kawamoto, H., Koide, Y., Morita, T., *et al*: Base-pairing requirement for RNA silencing by a bacterial small RNA and acceleration of duplex formation by Hfq. *Mol Microbiol* 61, 1013-1022, (2006).
- 34) Urban, J. H. & Vogel, J: Translational control and target recognition by *Escherichia coli* small RNAs in vivo. *Nucleic Acids Res* 35, 1018-1037, (2007).
- 35) Morita, T., Mochizuki, Y. & Aiba, H: Translational repression is sufficient for gene silencing by bacterial small noncoding RNAs in the absence of mRNA destruction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 4858-4863, (2006).
- 36) Prevost, K., Desnoyers, G., Jacques, J. F., *et al*: Small RNA-induced mRNA degradation achieved through both translation block and activated cleavage. *Genes Dev* 25, 385-396, (2011).
- 37) Pfeiffer, V., Papenfort, K., Lucchini, S., *et al*: Coding sequence targeting by MicC RNA reveals bacterial mRNA silencing downstream of translational initiation. *Nat Struct Mol Biol* 16, 840-846, (2009).
- 38) Desnoyers, G. & Masse, E: Noncanonical repression of translation initiation through small RNA recruitment of the RNA chaperone Hfq. *Genes Dev* 26, 726-739, (2012).
- 39) Sedlyarova, N., Shamovsky, I., Bharati, B., K., *et al*: sRNA-Mediated Control of Transcription Termination in *E. coli*. *Cell* 167, 111-121, (2016).
- 40) Rabhi, M., Espeli, O. Schwartz, A., *et al*: The Sm-like RNA chaperone Hfq mediates transcription antitermination at Rho-dependent terminators. *EMBO J* 30, 2805-2816, (2011).
- 41) Opdyke, J. A., Kang, J. G. & Storz, G: GadY, a small-RNA regulator of acid response genes in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 186, 6698-6705, (2004).
- 42) Otaka, H., Ishikawa, H., Morita, T., *et al*: PolyU tail of rho-independent terminator of bacterial small RNAs is essential for Hfq action. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 13059-13064, (2011).
- 43) Ishikawa, H., Otaka, H., Maki, K., *et al*: The functional Hfq-binding module of bacterial sRNAs consists of a double or single hairpin preceded by a U-rich sequence and followed by a 3' poly(U) tail. *RNA* 18, 1062-1074, (2012).
- 44) Papenfort, K., Bouvier, M., Mika, F., *et al*: Evidence for an autonomous 5' target recognition domain in an Hfq-associated small RNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 20435-20440, (2010).
- 45) Maki, K., Morita, T., Otaka, H. *et al*: A minimal base-pairing region of a bacterial small RNA SgrS required for translational repression of *ptsG* mRNA. *Mol Microbiol* 76, 782-792, (2010).
- 46) Schu, D. J., Zhang, A., Gottesman, S., *et al*: Alternative Hfq-sRNA interaction modes dictate alternative mRNA recognition. *EMBO J* 34, 2557-2573, (2015).
- 47) Morita, T., Ueda, M., Kubo, K., *et al*: Insights into transcription termination of Hfq-binding sRNAs of *Escherichia coli* and characterization of readthrough products. *RNA* 21, 1490-1501, (2015).
- 48) Morita, T., Nishino, R. & Aiba, H: Role of the terminator hairpin in the biogenesis of functional Hfq-binding sRNAs. *RNA* 23, 1419-1431, (2017).
- 49) Miyakoshi, M., Chao, Y. & Vogel, J: Regulatory small RNAs from the 3' regions of bacterial mRNAs. *Curr Opin Microbiol* 24, 132-139, (2015).
- 50) Chao, Y., Li, L., Girodat, D., *et al*: In Vivo Cleavage Map Illuminates the Central Role of RNase E in Coding and Non-coding RNA Pathways. *Mol Cell* 65, 39-51, (2017).
- 51) Bandyra KJ. & Luisi, BF: RNase E and the high fidelity orchestration of RNA metabolism. *Microbiol Spectr* 6, 2017, doi:10.1128/microbiolspec.RWR-0008-2017.
- 52) Melamed, S. Peer, A., Faigenbaum-Romm, R., *et al*:

- Global Mapping of Small RNA-Target Interactions in Bacteria. *Mol Cell* 63, 884-897, (2016).
- 53) Waters, S. A., McAteer, S. P., Kudla, G., *et al*: Small RNA interactome of pathogenic *E. coli* revealed through crosslinking of RNase E. *EMBO J.*, 36, 374-387, (2017).
- 54) Zheng, A., Panja, S. & Woodson, S. A: Arginine Patch Predicts the RNA Annealing Activity of Hfq from Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *J Mol Biol* 428, 2259-2264, (2016).

# Mechanical Basis for regulation of gene expression by bacterial sRNAs

Teppei MORITA

Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Suzuka University of Medical Science

**Key words:** small RNA, Hfq, post-transcriptional regulation, bacteria, base pair

---

## Abstract

Regulation of gene expression is a crucial process for living cells. Recent studies have clarified the mechanism and revealed the biological significance of the regulation of gene expression at post-transcription steps in many species. In gram negative bacteria including *Escherichia coli* and *Salmonella*, small regulatory RNAs (sRNAs) modulate the translation and stability of target mRNAs through base pairing by the help of an RNA chaperon protein Hfq. The RNA-based gene regulation is deeply involved in homeostasis and stress responses of bacteria cells. It also plays the role in infection by pathogenic bacteria. In this review, I focus on the Hfq-dependent sRNAs. The mechanism by which sRNAs regulate target mRNAs and the biological significance of this regulation are discussed.

略 歴

---

**森田 鉄兵** (博士 [理学]) 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助教

学 歴 :

平成 18 年 名古屋大学大学院 理学研究科 生命理学専攻 修了

職 歴 :

平成17年 日本学術振興会特別研究員(DC2)

18年 日本学術振興会特別研究員(PD)

18年 名古屋大学大学院 理学研究科 助手

21年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助手

28年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助教

学会活動 :

日本 RNA 学会, 日本分子生物学会, 日本細菌学会, 日本ゲノム微生物学会, 日本薬学会 (すべて正会員)

研究内容 :

細菌小分子 RNA の作動原理の研究