

リボヌクレオーム解析による酵母RNA修飾遺伝子の網羅的探索

著者	野間 章子
発行年	2006
URL	http://hdl.handle.net/2261/7729

平成19年 2月 28日

氏名 野間章子



21世紀COEプログラム

拠点：大学院工学系研究科
応用化学専攻、化学システム工学専攻、
化学生命工学専攻、マテリアル工学専攻

“化学を基盤とするヒューマンマテリアル創成”

平成18年度リサーチ・アシスタント報告書

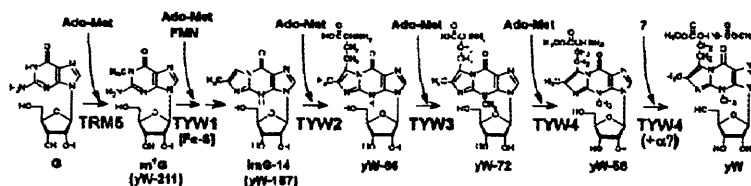
ふりがな 氏名	のま あきこ 野間 章子	生年月日
所属機関名	東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻	
所在地	東京都文京区本郷7-3-1 東京大学工学部5号館	
申請時点での 学年	博士課程 3年	
研究題目	リボヌクレオーム解析による酵母RNA修飾遺伝子の網羅的探索	
指導教員の所属・氏名	東京大学 工学(系) 鈴木 勉	

I 研究の成果 (1000字程度)

(図表も含めて分かりやすく記入のこと)

本研究では、真核生物のモデル生物として出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用い、LC/MS を用いた逆遺伝学的な手法により RNA 修飾の生合成に関わる遺伝子の同定を目指した。まず出芽酵母の全遺伝子の内、出芽酵母と同様な RNA 修飾を有する分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) と相同性のあるものを抽出し (3,482 遺伝子)、その中で非必須遺伝子を抽出した (2,154 遺伝子)。さらに ORF の遺伝子産物の機能が未知な分類に属する 351 遺伝子を最初の解析対象とした。遺伝子破壊株より RNA を抽出し全ヌクレオシドの LC/MS 解析により、RNA 修飾の有無を観測した(リボヌクレオーム解析)。この方法の利点は、遺伝子破壊株の網羅的な解析が可能であり、また RNA 修飾の基質や生合成機構が不明でも RNA 修飾に関与する遺伝子の同定が可能である。また、修飾中間体の解析から修飾の順序や生合成機構を類推することもできる。

現在までの研究の結果、2メチルグアノシン(m^2G)、5メトキシカルボニルメチル2チオウリジン(mcm^5s^2U)、5メトキシカルボニルメチルウリジン(mcm^5U)、ワイプトシン(yW)、3メチルシチジン (m^3C) の欠失した遺伝子破壊株を合計 12 株発見し、12 の新規 RNA 修飾遺伝子を同定することができた。このうち、 yW に関しては、新規遺伝子を 4 つ同定し(TYW1,2,3,4)、その複雑な反応経路を解明した。TYW1 は、その配列の中に保存性の高い鉄硫黄クラスターの結合モチーフがあり、鉄硫黄クラスターの生合成を阻害すると yW が欠損することから、 yW の生合成には鉄硫黄クラスターの形成が必須であることが明らかとなった。また、TYW2、TYW3、TYW4 の相換えタンパク質を用い、S-adenosyl methionine (Ado-Met) を基質として、試験管内で yW 生合成反応系を構築した。その結果、TYW2 は $yW-187 \rightarrow yW-86$ 、TYW3 は $yW-86 \rightarrow yW-72$ 、TYW4 は $yW-72 \rightarrow (yW-58) \rightarrow yW$ の反応をそれぞれ触媒することが判明した。したがって、TYW2,3,4 を用いれば、 $yW-187$ から yW までの再構成が可能である。Ado-Met はメチル基の供与体であり、実際、TRM5、TYW3、TYW4 が関与する反応においては、メチル化の基質として使われている。ところが興味深いことに、TYW2 が関与する反応においては、Ado-Met のメチル基ではなく、アミノカルボキシプロピル基を $yW-187$ に転移することが明らかとなった。この反応は Ado-Met を基質とするメチル化反応とは全く異なる新しいタイプの反応である。

図: yW 生合成経路

真核生物に見られる yW を含む Y 塩基は、HIV を含む疾患への関与が示唆されており、本研究の成果がこれら疾患の原因解明や治療法開拓へ寄与するところは大きく、最終的にはヒトの修飾酵素の機能解明から、機能性 RNA の質的变化に起因する疾患の探索と機構解明に大きな貢献が期待できる。

氏 名 野間 章子

II (1) 学術雑誌等に発表した論文A (掲載を決定されたものを含む.)

共著の場合、申請者の役割を記載すること。

(著者、題名、掲載誌名、年月、巻号、頁を記入)

著者：野間章子、桐野陽平、池内与志穂、鈴木勉

題名：Biosynthesis of wybutosine, a hyper-modified nucleoside in eukaryotic phenylalanine tRNA.

掲載紙名：EMBO Journal

年月：2006年5月

巻号：25巻10号

頁：2142-54

著者：野間章子、鈴木勉

題名：Ribonucleome analysis identified enzyme genes responsible for wybutosine synthesis.

掲載紙名：Nucleic acids symposium series.

年月：2006年11月

巻号：50巻

頁：65-6

著者：鈴木勉、池内与志穂、野間章子、鈴木健夫、坂口裕理子

題名：Mass spectrometric identification and characterization of RNA-modifying enzymes.

掲載紙名：Methods in Enzymology

年月：2007年 in press

II (2) 学会において申請者が口頭発表もしくはポスター発表した論文
(共同研究者 (全員の氏名)、題名、発表した学会名、場所、年月を記載)

著者、共同研究者氏名：野間章子、鈴木勉

題名：タンパク3000プロジェクト「転写・翻訳」拠点の成果(14)「リボスクレオーム解析を用いた酵母 RNA 修飾遺伝子の網羅的探索」(Systematic exploration of the genes encoding RNA modification enzymes in yeast by using ribonucleome analysis.) (ポスター発表)

学会名：第6回日本蛋白質科学会年会

場所：京都国際会議場

年月：2006年4月24日-26日

著者、共同研究者氏名：野間章子、鈴木勉

題名：Identification and characterization of four new genes responsible for biosynthesis of wybutosine, a hyper-modified nucleoside in eukaryotic phenylalanine tRNA (ポスター発表)

学会名：第4回21世紀COE国際シンポジウム

場所：東京都文京区東京大学

年月：2006年10月10日-11日

著者、共同研究者氏名：野間章子、鈴木勉

題名：Ribonucleome analysis identified enzyme genes responsible for wybutosine synthesis.
(口頭発表)

学会名：第33回核酸化学シンポジウム

場所：大阪大学コンベンションセンター

年月：2006年11月20日-22日

著者、共同研究者氏名：野間章子、鈴木勉

題名：Ribonucleome analysis identified enzyme genes responsible for wybutosine synthesis.
(口頭発表)

学会名：東大21COE-ソウル大BK21合同セミナー

場所：ソウル国立大学

年月：2006年12月11日-12日