

平成 14 年 2 月 22 日

環境・生命 工学専攻	学籍番号	953831	指導教官氏名	菊池 洋 田中 照通
申請者氏名	堀 義明			

## 論 文 要 旨(博士)

論文題目	転移RNAの二次構造変化とリボヌクレアーゼPによる切断反応に関する研究
------	-------------------------------------

(要旨 1,200字程度)

タンパク質の生合成でアミノ酸を運ぶ転移RNA (tRNA) の高次構造 (クローバーリーフ型二次構造) は安定であると考えられてきたが、ショウジョウバエのイニシエーターメチオニンtRNAは、水溶液中でダイナミックに高次構造が変化することが報告されている。この高次構造変化は、大腸菌リボヌクレアーゼP (RNase P) の触媒RNAサブユニット (M1 RNA) を用いた切断反応実験により証明された。RNase Pは、tRNA前駆体の5'の余分な配列 (5'リーダー配列) を切断、除去するプロセシング酵素の一つである。

本論文第2章では、このtRNAの高次構造変化が、イニシエーターメチオニンtRNAだけの例外的なものではなく、ショウジョウバエの多くのtRNAで起こっていることをM1 RNAの基質認識機構を利用して証明した。また、複数のショウジョウバエtRNAの高次構造変化を比較することにより、これら構造変化するtRNAは、水溶液中でクローバーリーフ型二次構造とダブルヘアピン型二次構造 (ふたつの大きなヘアピン構造が直列につながった二次構造) の間で構造が動いていることが示唆された。tRNAの高次構造は、塩基修飾、アミノアシル化、リボソームおける翻訳反応において大変重要である。本論文中で述べられているようなtRNAの高次構造変化が起こらないように、ショウジョウバエ生体内で何らかの機構が存在することが示唆された。

第3章では、M1 RNAがショウジョウバエ2SリボソームRNA (2S rRNA) を切断することを発見した。この切断反応がショウジョウバエの細胞内で起こっているかは、現在のところ不明であるが、新しいゲノム構成の生成や新しい機能RNAの生成、すなわちダイナミックな進化を押し進める原動力となっている可能性があるという点で、重要な研究成果であると考えられる。

第4章では、合成ベンズイミダゾール誘導体が、基質であるtRNA前駆体に結合してM1 RNA反応を阻害することがわかった。これまでに、アミノグリコシド系抗生物質がRNase P RNAサブユニットなどのリボザイムの阻害剤として報告されている。本研究で実験した合成ベンズイミダゾール誘導体のM1 RNAに対する阻害能は、このアミノグリコシド系抗生物質よりも高いものであった。M1 RNA反応が細菌必須の反応であることから、この成果が、抗細菌薬剤の開発のデザインの足がかりとなるものと考えられる。

第5章では、M1 RNA活性を調整するガイドDNAについて述べた。本研究におけるガイドDNAとは、基質におけるM1 RNA切断部位より上流の配列と塩基対を形成するよう設計したDNAのことである。このガイドDNAを用いて、切断部位の上流の配列をDNA/RNAのヘテロな二本鎖にした場合、M1 RNA反応は促進されることがわかった。また、このガイドDNAによってM1 RNA切断部位を選択させることにも成功した。

以上のように本研究ではtRNAの高次構造安定性とM1 RNAの基質認識特異性について新たな知見を得ることができた。これらの研究成果は今後RNase PによるRNAの特異的切断反応を利用した遺伝子発現制御システムのための重要な知識となるだろう。