

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：13904

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658074

研究課題名(和文) スプリット型 tRNA からみた tRNA の構造安定化戦略と進化の研究

研究課題名(英文) Study on strategy for structure stabilization and evolution of tRNA in the view of split gene assembly

研究代表者

田中 照通 (Tanaka, Terumichi)

豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30273337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000 円、(間接経費) 960,000 円

研究成果の概要(和文)：本研究では生命の起源を分子から調べる一連の研究の一部である。初期段階において生命は tRNA を遺伝暗号の重要な担い手として選んだが、共通のクローバリーフ構造を有する分子どのように選ばれて来たのかの謎は解かれていない。tRNA は 2 つの大きなヘアピン型の RNA に由来すると考えるが、実在する例にも、コードする遺伝子が 1 つながりのものではなく前半と後半とを大きく 2 分割して存在するもの等がある。本研究ではゲノム情報を利用してスプリット型遺伝子を網羅的に検索し実験的に追跡した。インフォルマティクスによるでは多くの候補を見つけることができた。また過去に報告された遺伝子がスプリット型であることの検証をした。

研究成果の概要(英文)：Transfer RNA is an important biomolecule containing common cloverleaf structure, the origin of which is an enigma. Our previous study showed tRNA is comprised of two independent hairpin RNAs to join one. The evidence remains as split genes in genome sequence. In this study, we searched and predicted possible split tRNA genes on the genomes, and obtained many candidates. The examination of the presence of split genes and detection of re-organization of the transcripts into one functional tRNA were performed. Some candidates were shown as the split genes, however, new evidence was not added in this study.

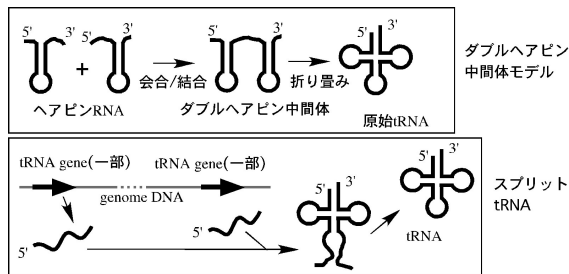
研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：tRNA split gene evolution

1. 研究開始当初の背景

(1) タンパク質合成においてリボソームにアミノ酸を運ぶ tRNA 分子は生物種と対応するアミノ酸の種類を超えて共通のクローバリーフという構造をとっている。この構造は極めて安定であるとされてきたが、塩基修飾を欠く tRNA ではしばしばこの構造を維持することができないという現象が報告されている。申請者は過去に試験管内でこのクローバリーフ構造を維持することができない tRNA が普遍的に存在することを報告してきたが(*Eur. J. Biochem.* (2000) **267**, 4781-4788.), これは現存する tRNA 分子の多くが 2 つの独立したヘアピンがつながってできたと思われる配列上の痕跡があるためであることを明らかにし、「ダブルヘアピン中間体モデル」を提唱した(*Viva Origino* (2001) **29**, 134-142.)。



(2) このモデルの発表後に米国の Soll らの研究グループが 2 つの遺伝子に分断して存在する tRNA の例を報告し(*Nature*)、続いて立教大の関根らの研究グループや慶応大のグループらが複数の遺伝子に分断して存在する tRNA の存在を報告している(*Science*)。

2. 研究の目的

(1) 100 塩基に満たない tRNA が複数の遺伝子座に分断されて存在する意味は通常の見解では理解できない、普遍的でない。しかし、申請者の進化モデルはこの答えを与える。現存する tRNA の不安定もスプリット tRNA 遺伝子の存在も、すべて tRNA の進化の過程の痕跡が現れたものである。このモデルをスプリット tRNA 遺伝子を有する生物を材料して用い網羅的な RNA 解析の手法から、RNA の挙動を明らかにする。

(2) 本申請研究は「我々生物はすべて進化の途上に乗っている。それはゲノム上の遺伝子に反映される」とする申請者の主張が正しいかどうかを検証する一つの手段である。多くの生物種にとって tRNA 分子はタンパク質合成の際にアミノ酸を運ぶ部品に過ぎないが、タンパク質合成系の進化が完了していない生物においては進化の過程を写す鏡であると考えられる。

本申請研究によってスプリット tRNA の挙動を知ることで、tRNA 分子がどのように獲得され、安定化されてきたのか、その分子レベルでの政略を暴くことができる。

3. 研究の方法

(1) tRNA 分子は必ずしも安定ではない。この事実を申請者らは tRNA が変性して生じるヘアピン型構造を酵素的に検出する系を用いて過去に示した(*Eur. J. Biochem.* (2000) **267**, 4781-4788.)。真核生物のほとんどが不安定な tRNA を有していること(*J. Biochem.* (2002) **131**, 839-847.)、反対に真正細菌ではほとんどの tRNA が安定であること(*Biosci. Biotechnol. Biochem.* (2003) **67**, 1172-1176.)、を示し、統計的な解析から tRNA 分子は変性して 2 つの大きなヘアピン構造をとることができる傾向があることを示してきた。これらの事実から tRNA 分子の起源では、「偶然凍結」によって完成形が作られたものよりも、RNA プールのようなものから 2 つの大きなヘアピンが合わさることで形成されて作られた(リクルートされた)ものが多いと考える「ダブルヘアピン中間体モデル」を提唱した(*Viva Origino* (2001) **29**, 134-142.)。現存する tRNA は古来のヘアピン形成の痕跡を配列として残しているため、クローバリーフ構造を維持できなくなったものがヘアピン型に戻るのが変性の正体である。クローバリーフ構造を維持するためには tRNA 分子側も戦略を見つけた。「塩基修飾」はクローバリーフ構造ではループ部分に位置するが、変性時のダブルヘアピン構造ではヘアピン形成に必要な塩基対形成の位置にある。塩基修飾をもたない転写

物では実際に構造は不安定であることを実験的に確認した。またセリン tRNA 等でみられる長いエクストラループ構造もヘアピン型構造への移行を抑える機能があることを示した。

こうした tRNA の起源モデルの(RNA 学会・tRNA ワークショップ)発表後に、遺伝子上で分断された tRNA が実際に存在することが次々に Nature 誌・Science 誌・PNAS 誌に報告されてきている。

遺伝子上において分断されて存在する tRNA は「スプリット tRNA」と呼ばれている。スプリット tRNA の存在は通常のインフォルマティックスの手法で扱うのは難しく、既知ゲノム配列からの予測はあまり進んでない(Yale 大学と慶応大学のグループからの報告がある)。

スプリット tRNA は tRNA の起源を解き明かす材料である。根底には申請者らの「ダブルヘアピンモデル」があり、tRNA 分子のクローバリーフ構造の安定化戦略の解明と、tRNA 分子の進化の過程と方向性が隠れている。tRNA は生命の起源に端を発している「化石分子」のひとつであるため、tRNA の分子進化がわかると、グローバルな意味での生命の進化の方向性が見えてくる。加えて、現存する tRNA 分子を安定化する手法を知ることができるために、例えば「tRNA 病」として知られる tRNA 遺伝子内の塩基変異に起因する遺伝病に対処するための医薬品の開発への道も開けるものと期待される。

(2) これまでにスプリット tRNA 遺伝子を有する生物が 2 種類ほど見ついている。現時点では古細菌に集中している。本申請研究の初年度では、既知のスプリット tRNA 保有生物に対して網羅的な RNA 解析を行い、未知のスプリット tRNA を実験的に検索するとともに、遺伝子発現から tRNA 分子形成に至る過程をあわせて解析する。

#### 4. 研究成果

本申請研究では生命の起源を分子レベルにおいて解析することを目的とした一連の研究の一部を構成する。細胞性生物の初期段階において生命は tRNA を遺伝暗号の担い手

かつアミノ酸の運び手として選んだが、種を超えてまた対応するアミノ酸を超えて共通のクローバリーフ構造(立体構造では L 字構造)を有する tRNA がどのように選ばれて来たのかの謎は解かれていない。本申請研究では tRNA の由来は 2 つの大きなヘアピン型の RNA に由来すると考えるモデル(発表済み)に基づく実証研究である。この tRNA におけるダブルヘアピンモデルは、実際の tRNA 分子をコードする遺伝子において現在でも残っていることが別の研究者らによって示されてきたが、本申請研究では、その過程を更に網羅的に検証することを目的とした。実際に、見つかった例では、tRNA 分子をコードする遺伝子が 1 つながりのものではなく、前半と後半部分とを大きく 2 つに分割した形で存在する例や、更に多数の断片へと分割されてコードされ、これらは別々に転写された後に 1 つながりに生成されるという過程をたどる。本申請研究ではゲノムデータベースの情報を広く活用し、ゲノム配列内に存在するスプリット型 tRNA 遺伝子を更に網羅的に検索し、それを実験的に追跡するという方法論を選択した。インフォルマティックスによるゲノム配列上での検索では多くのスプリット型 tRNA 遺伝子の可能性を有するものを見つけることができた。その後に実験的に検証したものでは、過去に報告された遺伝子がスプリット型であることの検証に成功したが、新規のものとしては断定的な証拠にはつながらず現段階では報告するに至っていない。この報告書を記述している時点において実験的な検証を行った遺伝子個補はごく一部に過ぎないため、残りの候補の検証に期待される場所である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田中照通 (TANAKA, Terumichi)  
豊橋技術科学大学・環境生命工学専攻・准  
教授  
研究者番号：30273337

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：