

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23350081

研究課題名(和文)RNA成熟マシナリーの構造的基盤と機能進化

研究課題名(英文)Structural basis and functional evolution of RNA maturation machinery

研究代表者

堀 弘幸(HORI, Hiroyuki)

愛媛大学・理工学研究科・教授

研究者番号：20256960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,900,000円、(間接経費) 4,470,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「RNA成熟システムの全体像を物理・化学的手法で包括的に理解する」ことを目標とした。申請は、3年間の短期申請で、生命の3つのドメイン(真正細菌、古細菌、真核生物)で起源生物に近い単細胞生物のRNA成熟システムを中心に調べた。RNA成熟に関わるtRNA修飾酵素、tRNAスプライシングエンドヌクレアーゼなどについて、X線結晶構造解析、生化学的解析を併用して、その性質を明らかにした。また、遺伝子破壊株解析からRNA修飾ヌクレオシドと修飾酵素のネットワークの環境応答を明らかにした。さらに、古細菌tRNAの新規修飾をいくつか発見した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is physical and chemical understanding of RNA maturation system. The study were performed for three years. We mainly researched the relatively simple organism of three domains of life (eukaryotes, archaea and eubacteria). We chracterized several tRNA modification enzymes and tRNA splicing endonulceases by X-ray crystal structural study and biochemical methods. Further more, we investigated the network between modified nucleosides in tRNA and tRNA modification enzymes using gene disruptant strains. Moreover, we found distinct tRNA modifications in a thermo-acidophilic archaeon, Thermoplasma acidophilum.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：核酸 酵素 タンパク質 RNA

1. 研究開始当初の背景

DNA 上にコードされた遺伝情報は、RNA を介してタンパク質へと変換される。合成された RNA は、そのままでは生理機能を発揮することは少なく、多くの場合、切断・再結合・修飾・輸送などのプロセスを経て成熟する。

21 世紀に入り、多くの生物でゲノムプロジェクトが進行し、RNA 成熟システムは生物種間で驚くほど多様性があり、遺伝病・発がん、発生・分化、感染・免疫など高次生命現象とも複雑な相関があることが判ってきた。

しかしながら、個々の研究は個別に進展しているものの RNA 成熟システムの全体像を物理・化学的手法で包括的に理解することが、研究を開始した 3 年前はもちろん、現在でも期待されている。

2. 研究の目的

本研究は、「RNA 成熟システムの全体像を物理・化学的手法で包括的に理解する」ことを究極の目標としている。申請は、3 年間の短期申請で、生命の 3 つのドメイン（真正細菌、古細菌、真核生物）で起源生物に近い単細胞生物の RNA 成熟システムを中心に調べることとした。

3. 研究の方法

主な研究手法は以下のとおりである。

- (1) RNA 成熟に関わる tRNA メチル化酵素、tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼなどについて、精製標品を得、その生化学的解析・構造解析を行なう。
- (2) これまで RNA 成熟システムが十分に解析されていなかった生物種について、ゲノム情報を元に RNA や修飾酵素の分析を行う。
- (3) *Thermus thermophilus* をモデル生物として、RNA 成熟に関わるタンパク質の遺伝子破壊株を作成し、環境変化に対応して、RNA 成熟システムがどう変化し、タンパク質合成系を制御するのかを調べる。

4. 研究成果

(1) トポロジカルノット型 RNA メチル化酵素の基質認識問題

野生型および変異型 TrmH を作成し、トリプトファン残基の蛍光を指標として TrmH-tRNA 複合体形成の前定常状態速度論解析を行ない、TrmH の触媒ドメイン自身がメチル化する・しないという基質 tRNA 認識に関わっていることを証明し、Ochi *et al.* *J. Biol. Chem.* (2013) として報告した。

(2) マルチサイト特異性 tRNA メチル化酵素の基質認識問題

Aquifex aeolicus の Trm1 は、マルチサイト特異性 RNA メチル化酵素である。

この酵素の X 線結晶構造解析と生化学的

解析を行ない、マルチサイト特異性がどのようなタンパク質構造に由来するのかを推定するモデルを構築することができた。この研究成果は、Awai *et al.* *J. Biol. Chem.* (2011) に報告した。

(3) 葉酸依存性 RNA メチル化酵素の基質認識

5, 10-メチレンテトラヒドロ葉酸をメチル基供与体とする tRNA 修飾酵素 TrmFO の生化学解析を行ない、T-アームの G53-C61 塩基対と U54U55C56 配列を認識することが判った。この研究成果は、Yamagami *et al.* *J. Biol. Chem.* (2012) にまとめた。

(4) tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼの前駆体 tRNA 認識問題

前駆体 tRNA 上には、時々、イントロンが挿入されていることがある。一部の古細菌は、「変則的な位置に挿入された変則的なイントロンを切断できる」 tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼを保持している。A. *pernix* の tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼの X 線結晶構造解析を行ない、クレンアーキア特異性ループが変則的な部位に存在する変則的イントロンの認識に直接関わっていることを見出した。この研究成果は、Hirata *et al.* *Nucleic Acids Res.* (2011) に報告した。一方、ARMAN-2 の tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼの X 線結晶構造解析の結果、この酵素は -サブユニットと -サブユニットがシャッフルされた特異的な構造をもつことを明らかにした。この研究成果は、Hirata *et al.* *Nucleic Acids Res.* (2012) にまとめることができた。

(5) tRNA 修飾ヌクレオチドと修飾酵素のネットワークの研究

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* では、tRNA 修飾と修飾酵素がネットワークを形成し、タンパク質合成系を環境変化に適應させていることを発見した。本研究の成果は、Ishida *et al.* *Nucleic Acids Res.* (2011) としてまとめることができた。

(6) RNA 成熟システムの多様性の検討

好熱好酸性古細菌 *Thermoplasma acidophilum* の tRNA^{Leu} の構造を決定し、古細菌で初となる幾つかの修飾ヌクレオチドを同定した。本研究の内容は、Tomikawa *et al.* *FEBS Lett.* (2013) として報告した。

(7) その他

本研究を遂行中、国内外の 2 つの研究グループから、共同研究の依頼があり、本科研費で購入した機材（インキュベーターやカラムなど、いずれも 50 万円以下）を用いて対応した。まず、ドイツの免疫学のグループから、精製 TrmH 標品と発現 plasmid、Gm の標準化合物の提供依頼があり対応した。この研究成果は、ドイツのグループにより、Jöckel *et al.* *J. Exp. Med.* (2013) としてまとめられた。次いで、岡山大学のグループから、ヒト tRNA 修飾の分析依頼があり対応した。この研究成果は、岡山大学のグループにより、Watanabe *et al.*

Nucleic Acids Res. (2013) として報告された。

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 10 件)

- (1) H. Hori, “Methylated nucleosides in tRNA and tRNA methyltransferases”, *Frontiers in Genetics*, in press (2014) 査読有
- (2) C. Tomikawa, T. Ohira, Y. Inoue, T. Kawamura, A. Yamagishi, T. Suzuki, and H. Hori, “Distinct tRNA modifications in the thermo-acidophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum*.”, *FEBS Letters* **587**, 3575-3580 (2013) 査読有
- (3) A. Ochi, K. Makabe, R. Yamagami, A. Hirata, R. Sakaguchi, Y.M. Hou, K. Watanabe, O. Nureki, K. Kuwajima, and H. Hori, “The catalytic domain of topological knot tRNA methyltransferase (TrmH) discriminates between substrate tRNA and nonsubstrate tRNA via an induced-fit process.”, *J. Biol. Chem.* **288**, 25562-25574 (2013) 査読有
- (4) K. Watanabe, R. Miyagawa, C. Tomikawa, R. Mizuno, A. Takahashi, H. Hori, and K. Ijiri, “Degradation of initiator tRNA^{Met} by Xrn1/2 via its accumulation in the nucleus of heat-treated HeLa cells.” *Nucleic Acids Res.* **41**, 4671-4685 (2013) 査読有
- (5) R. Yamagami, K. Yamashita, H. Nishimasu, C. Tomikawa, A. Ochi, C. Iwashita, A. Hirata, R. Ishitani, O. Nureki, and H. Hori, “The tRNA recognition mechanism of folate/FAD-dependent tRNA methyltransferase (TrmFO).” *J. Biol. Chem.* **287**, 42480-42494 (2012) 査読有
- (6) A. Hirata, K. Fujishima, R. Yamagami, T. Kawamura, J. F. Banfield, A. Kanai, and H. Hori, “X-ray structure of the fourth type of archaeal tRNA splicing endonuclease: insight into the evolution of a novel three-unit composition and a unique loop involved in broad substrate specificity.” *Nucleic Acids Res.* **40**, 10554-10566 (2012) 査読有
- (7) S. Jöckel, G. Nees, R. Sommer, Y. Zhao, D. Cherkasov, H. Hori, G. Ehm, M. Schnare, M. Nain, A. Kaufmann, and S. Bauer, “The 2'-O-methylation status of a single guanosine controls transfer RNA-mediated Toll-like receptor 7 activation or inhibition.”, *J. Exp. Med.* **209**, 235-241 (2012) 査読有
- (8) T. Awai, A. Ochi, Ihsanawati, T. Sengoku, A. Hirata, Y. Bessho, S. Yokoyama, and H. Hori, “Substrate tRNA recognition mechanism of a multi-site-specific tRNA methyltransferase, *Aquifex aeolicus* Trm1, based on the X-ray crystal structure”, *J. Biol. Chem.* **286**, 35236-35246 (2011) 査読有
- (9) A. Hirata, T. Kitajima, and H. Hori, “Cleavage of intron from the standard or non-standard position of the precursor tRNA by the splicing

endonuclease of *Aeropyrum pernix*, a hyper-thermophilic Crenarchaeon, involves a novel RNA recognition site in the Crenarchaea specific loop.”,

- Nucleic Acids Res.* **39**, 9376-9389 (2011) 査読有
- (10) K. Ishida, T. Kunibayashi, C. Tomikawa, A. Ochi, T. Kanai, A. Hirata, C. Iwashita, and H. Hori, “Pseudouridine at position 55 (Ψ55) in tRNA controls the contents of other modified nucleotides for low-temperature adaptation in the extreme-thermophilic eubacterium *Thermus thermophilus*.” *Nucleic Acids Res.* **39**, 2304-2318 (2011) 査読有

〔学会発表〕(計 56 件)

- (1) Ryo Anraku, Miyu Higashiguchi, Takuya Kawamura, and Hiroyuki Hori, “Prediction of genes for tRNA modifications in the thermoacidophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum*”, 第 36 回日本分子生物学会年会・神戸、2013 年 12 月 3~6 日
- (2) Ai Kazayama, Ryota Yamagami, Takashi Yokogawa, and Hiroyuki Hori, “Alteration of solid-phase DNA probe method for large-scale tRNA purification”, 第 36 回日本分子生物学会年会・神戸、2013 年 12 月 3~6 日
- (3) Chie Tomikawa, Takayuki Ohira, Yasushi Inoue, Takuya Kawamura, Akihiko Yamagishi, Tsutomu Suzuki, and Hiroyuki Hori, “Novel tRNA modifications in the thermophilic-acidophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum*”, 第 36 回日本分子生物学会年会・神戸、2013 年 12 月 3~6 日
- (4) 前田雄太、平田 章、長野倫子、土手智裕、鈴木健夫、金井 保、鈴木 勉、堀 弘幸 “超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* 由来 tRNA^{Trp} の修飾ヌクレオシド分析 “、2013 年度極限環境生物学会年会、明治大学生田キャンパス、2013 年 10 月 27 日
- (5) 西山聖示、平田 章、田村俊浩、堀 弘幸 “*Thermococcus kodakarensis* 由来 tRNA メチル化酵素(Trm- m²G10)の構造機能解析 “、2013 年度極限環境生物学会年会、明治大学生田キャンパス、2013 年 10 月 27 日
- (6) 楠葉浩晃、吉田剛士、岩崎絵梨、栗井貴子、平田 章、富川千恵、山上龍太、堀 弘幸、 “Does D20 formation by eubacterial dihydrouridine synthase require the other modified nucleotides for its modification in tRNA? ”、第 3 回モデル生物丸ごと一匹学会年会、大阪大学豊中キャンパス、2013 年 9 月 21 日
- (7) Shiho Ohmori, Yu Nishida, Kazuki Okada, Akira Hirata, and Hiroyuki Hori, “Eukaryotic tRNA (m²G10)

- methyltransferase (Trm11-Trm112) recognizes the whole structure of tRNA.”、第3回モデル生物丸ごと一匹学会年会、大阪大学豊中キャンパス、2013年9月21日
- (8) Ai Kazayama, Ryota Yamagami, Takashi Yokogawa, and **Hiroyuki Hori** “固相化DNAプローブ法を用いた好熱菌 tRNA の大量精製法の確立”、第3回モデル生物丸ごと一匹学会年会、大阪大学豊中キャンパス、2013年9月21日
- (9) **Akira Hirata**, Kosuke Fujishima, Ryota Yamagami, Takuya Kawamura, Jillian F. Banfield, Akio Kanai and **Hiroyuki Hori**, “X-ray crystal structure of the fourth type of tRNA splicing endonuclease from an uncultivated archaeon *Candidatus Micrarchaeum acidiphilum* (ARMAN-2)”, *Thermophiles* 2013, Deutschland, 8-13 September, 2013
- (10) Takuya Kawamura, Chie Tomikawa, Takayuki Ohira, Yasushi Inoue, Nobukazu Nameki, Natsuhisa Oka, Hiroki Taniguchi, Kaori Ando, Satoshi Ohno, Akihiko Yamagishi, **Tsutomu Suzuki**, Takashi Yokogawa, and **Hiroyuki Hori**, “The synthesis mechanism of a tRNA modification in thermophilic bacteria”, *Riboclub 2013 Annual Meeting, Canada*, 22-24 September, 2013
- (11) 山上龍太, 山下光輝, 西増弘志, 富川千恵, 越智杏奈, 岩下智香子, **平田 章**, 石谷隆一郎, 濡木 理, **堀 弘幸**, “葉酸依存性 tRNA(m⁵U54)メチル化酵素 TrmFO はどうやって tRNA 中の U54 を認識しているのか?”, 第15回日本 RNA 学会年会、松山、2013年7月24日
- (12) 富川千恵, 石田一雄, 国林貴史, 金井 保, 横川隆志, **堀 弘幸**, “m⁷G46 および 55 を中心とした *Thermus thermophilus* tRNA 修飾ネットワーク”, 第15回日本 RNA 学会年会、松山、2013年7月24日
- (13) 渡邊和則, 宮川 隆, 富川千恵, 水野利恵, 高橋昭久, 大槻高史, **堀 弘幸**, 井尻憲一, “熱ストレスによる開始 tRNA^{Met} の細胞内動態”, 第15回日本 RNA 学会年会、松山、2013年7月24日
- (14) 楠葉浩晃, 吉田剛士, 岩崎絵梨, 粟井貴子, **平田 章**, 富川千恵, 山上龍太, **堀 弘幸**, “真正細菌ジヒドロウリジン合成酵素は D20 形成に tRNA 上の他の修飾ヌクレオチドを必要とする”, 第15回日本 RNA 学会年会、松山、2013年7月24日
- (15) 河村卓哉, 富川千恵, 大平高之, 井上仁, 行木信一, 岡 夏央, 谷口浩輝, 安藤香織, 大野 敏, 山岸明彦, **鈴木 勉**, 横川隆志, **堀 弘幸**, “*Thermoplasma acidophilum* 由来 tRNA^{Leu} において Archaeosine が2カ所に形成されるメカニズムの解析”, 第15回日本 RNA 学会年会、松山、2013年7月24日
- (16) **平田 章**, 長野倫子, 石丸雄基, 金井 保, 鈴木健夫, 佐藤朝子, 金井昭夫, **鈴木 勉**, **堀 弘幸**, “超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* 2'-5' RNA リガーゼの機能解析”, 第15回日本 RNA 学会年会、松山、2013年7月24日
- (17) 大森志穂, 西田 裕, 岡田和樹, **平田 章**, **堀 弘幸**, “Yeast tRNA (m²G10) methyltransferase (Trm11-Trm112) の基質認識機構の解明”, 第15回日本 RNA 学会年会、松山、2013年7月24日
- (18) **平田 章**, 藤島皓介, 山上龍太, 河村卓哉, Jillina F. Banfield, 金井昭夫, **堀 弘幸**, “極小アーキア(古細菌)における4番目のタイプ tRNA スプライシングエンドヌクラーゼの X 線結晶構造”, 第13回蛋白質科学会、鳥取、2013年6月12日
- (19) T. Kawamura, C. Tomikawa, T. Ohira, Y. Inoue, A. Yamagishi, **T. Suzuki**, and **H. Hori**, “tRNA modifications in thermoacidophilic archaeon”, 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月11~14日
- (20) 西田 裕, 岡田和樹, **平田 章**, **堀 弘幸**, “酵母由来の tRNA (m²G10) methyltransferase (Trm11-Trm112) の基質認識機構の解明”, 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月11~14日
- (21) K. Yoshii, **A. Hirata**, and **H. Hori**, “Expression and purification of yeast tRNA (Cm32/Gm34) methyltransferase (Trm7)”, 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月11~14日
- (22) T. Nagano, **A. Hirata**, Y. Ishimaru, T. Kanai, and **H. Hori**, “Structural and functional analyses of archaeal 2'-5' RNA ligase”, 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月11~14日
- (23) H. Takuma, M. Minoji, N. Ushio, C. Tomikawa, **A. Hirata**, A. Ochi and **H. Hori**, “Research for substrate tRNA recognition mechanism of eubacterial tRNA (m¹A58) methyltransferase (TrmI)”, 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月11~14日
- (24) S. Nishiyama, **A. Hirata**, T. Awai, and **H. Hori**, “Improvement of a protein purification method for nucleic acid-free in the case of recombinant tRNA (N²,N²-guanine)-dimethyltransferase (Trm1) from *Aquifex aeolicus*”, 第35回日本分子生物学会年会、福岡、2012年12月11~14日
- (25) C. Tomikawa, K. Ishida, T. Kunibayashi, A. Ochi, T. Kanai, **A. Hirata**, C. Iwashita, and **H. Hori**, “Negative control of Gm18, m⁵s²U54 and m¹A58 modifications by pseudouridine55 modification in *Thermus*

- thermophilus* tRNAs: the tRNA modification network in extreme thermophile”, 24th tRNA workshop, Chilli, December 2-6, 2012
- (26) R. Yamagami, K. Yamashita, H. Nishimasu, C. Iwashita, **A. Hirata**, O. Nureki, and **H. Hori**, “Substrate transfer RNA recognition mechanism of tRNA (m⁵U54) methyltransferase (TrmFO) based on the biochemical and structural analysis.”, 第2回モデル生物丸ごと一匹学会, SPring-8 (Harima), 2012年9月28日
- (27) H. Takuma, M. Minoji, N. Ushio, C. Tomikawa, **A. Hirata**, A. Ochi and **H. Hori**, “Substrate tRNA recognition mechanism of eubacterial tRNA (m¹A58) methyltransferase (TrmI)”, 第2回モデル生物丸ごと一匹学会, SPring-8 (Harima), 2012年9月28日
- (28) Y. Nishida, K. Okada, **A. Hirata**, and **H. Hori**, “Functional analysis of yeast tRNA (m²G10) methyltransferase (Trm11-Trm112)”, 第2回モデル生物丸ごと一匹学会, SPring-8 (Harima), 2012年9月28日
- (29) C. Tomikawa, K. Ishida, T. Kunibayashi, A. Ochi, T. Kanai, **A. Hirata**, C. Iwashita, and **H. Hori**, “Adaptation of *Thermus thermophilus* to environmental temperature via tRNA modification enzymes-modified nucleotides network in tRNA”, 第2回モデル生物丸ごと一匹学会, SPring-8 (Harima), 2012年9月28日
- (30) **H. Hori**, “Visiting Yellowstone National Park, the place of discovery of thermophiles”, 第2回モデル生物丸ごと一匹学会, SPring-8 (Harima), 2012年9月28日
- (31) T. Kawamura, C. Tomikawa, T. Ohira, Y. Inoue, A. Yamagishi, **T. Suzuki**, and **H. Hori**, “Transfer RNA modifications in thermophilic bacteria”, 9th Extremophiles 2012 (Spain) September 9, 2012
- (32) R. Yamagami, K. Yamashita, H. Nishimasu, C. Tomikawa, A. Ochi, C. Iwashita, **A. Hirata**, R. Ishitani, O. Nureki, and **H. Hori**, “Transfer RNA recognition mechanism of *Thermus thermophilus* folate/FAD-dependent tRNA methyltransferase (TrmFO)”, 9th Extremophiles 2012 (Spain) September 9, 2012
- (33) **A. Hirata**, K. Fujishima, R. Yamagami, T. Kawamura, J. F. Banfield, A. Kanai, and **H. Hori**, “Structural insight into the evolution and broad substrate specificity of the fourth type of tRNA splicing endonuclease”, 9th Extremophiles 2012 (Spain) September 9, 2012
- (34) **平田章**, 藤島皓介, 山上龍太, 河村卓哉, J. F. Banfield, **堀弘幸**, “極小アーキアにおける tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼの構造機能解析”, 第25回日本アーキア研究会(兵庫)2012年7月18日
- (35) T. Kawamura, C. Tomikawa, T. Ohira, Y. Inoue, A. Yamagishi, **T. Suzuki**, and **H. Hori**, “tRNA modifications in *Thermoplasma acidophilum*”, 第14回日本RNA学会年会(仙台)2012年7月16日
- (36) 山上龍太, 山下光輝, 西増弘志, 富川千恵, 越智杏奈, 岩下智香子, **平田章**, 石谷隆一郎, 濡木理, **堀弘幸**, “サーマス・サーモフィラス由来 tRNA メチル化酵素 TrmFO の基質認識機構”, 第14回日本RNA学会年会(仙台)2012年7月16日
- (37) 富川千恵, 石田一雄, 国林貴史, 越智杏奈, 金井保, **平田章**, 岩下知香子, **堀弘幸**, “高度好熱菌 tRNA 中のシュードウリジン 55 修飾は、温度変化への適応因子として機能する”, 第14回日本RNA学会年会(仙台)2012年7月16日
- (38) 詫間浩之, 美濃地真之, 牛尾なつみ, 富川千恵, **平田章**, **堀弘幸**, “*Thermus thermophilus* tRNA (m¹A58) methyltransferase [TrmI]の基質認識メカニズムの解明”, 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011年12月16日
- (39) 西田裕, 岡田和樹, **平田章**, **堀弘幸**, “酵母由来の tRNA (m²G10) methyltransferase (Trm11-Trm112)の機能解析”, 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011年12月16日
- (40) 田村俊浩, **平田章**, **堀弘幸**, “超好熱性古細菌 *Thermococcus kodakaraensis* 由来 tRNA (m²G10/m²G10) methyltransferase (TK0981)の酵素学的性質の決定”, 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011年12月16日
- (41) 山上龍太, 山下光輝, 西増弘志, 岩下知香子, **平田章**, 濡木理, **堀弘幸**, “サーマス・サーモフィラス由来葉酸依存性 tRNA (m⁵U54) メチル化酵素の基質認識機構”, 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011年12月16日
- (42) 長野倫子, 石丸雄基, 金井保, **平田章**, **堀弘幸**, “アーキアにおける 2'-5' RNA ligase の構造機能解析”, 第12回極限環境生物学会年会, 長崎, 2011年11月27-28日
- (43) Hiroyuki Takuma, Masayuki Minoji, Natsumi Ushio, Chie Tomikawa, **Akira Hirata**, Anna Ochi, and **Hiroyuki Hori**, “Substrate tRNA recognition mechanism of eubacterial tRNA (m¹A58) methyltransferase (TrmI)”, The 38th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Sapporo, November 9-11, 2011
- (44) T. Kawamura, C. Tomikawa, T. Ohira, Y. Inoue, A. Yamagishi, **T. Suzuki**, and **H. Hori**, “Transfer RNA modifications in *Thermoplasma acidophilum*”, Thermophiles 2011, Big Sky, Montana, USA, September

- 12, 2011
- (45) **A. Hirata**, T. Kitajima, and **H. Hori**, “Recognition and cleavage of intron in precursor tRNA by the splicing endonuclease from *Aperopyrum permix*, an aerobic hyper-thermophilic Crenarchaeon, thorough a novel RNA recognition site in Crenarchaea specific loop”, Thermophiles 2011, Big Sky, Montana, USA, September 12, 2011
- (46) R. Yamagami, N. Shigi, S.-I. Asai, K. Watanabe, and **H. Hori**, “Relationship between 5-methyluridine modification at position 54 in tRNA and tRNA modification network in *Thermus thermophilus*”, Thermophiles 2011, Big Sky, Montana, USA, September 12, 2011
- (47) T. Nagano, **A. Hirata**, Y. Ishimaru, T. Kanai, and **H. Hori**, “Structural and functional analyses of archaeal 2'-5' RNA ligase”, Thermophiles 2011, Big Sky, Montana, USA, September 12, 2011
- (48) T. Awai, A. Ochi, Ihsanawati, T. Sengoku, S. Kimura, C. Tomikawa, T. Yokogawa, **A. Hirata**, Y. Bessho, T. Suzuki, S. Yokoyama and **H. Hori**, “Multisite specific tRNA methyltransferase Trm1 from a hyper-thermophilic eubacterium, *Aquifex aeolicus*”, Thermophiles 2011, Big Sky, Montana, USA, September 12, 2011
- (49) 西田 裕、岡田和樹、**平田 章**、**堀 弘幸**、 “ 酵母由来の tRNA (m²G10) methyltransferase (Trm11-Trm112) の機能解析 ”、RNA フロンティアミーティング、大府 (愛知) 2011 年 8 月 30 日
- (50) 長野 倫子、**平田 章**、石丸 雄基、金井 保、**堀 弘幸**、 ” 古細菌における 2' - 5' RNA ligase の構造機能解析 ”、RNA フロンティアミーティング、大府 (愛知) 2011 年 8 月 30 日
- (51) H. Takuma, M. Minoji, N. Ushio, C. Tomikawa, **A. Hirata**, C. Iwashita, A. Ochi, and **H. Hori**, “Elucidation of substrate tRNA recognition mechanism by tRNA (m¹A58) methyltransferase [TrmI] from *Thermus thermophilus*”, 第 1 回モデル生物丸ごと一匹学会・第 10 回高度好熱菌連携会議、理研・播磨 (SPring-8) August 19, 2011
- (52) T. Matsugi, **A. Hirata**, and **H. Hori**, “The crystal structure analysis and establishment of activity measurement system of *Thermus thermophilus* tRNA (Um34,Cm34) methyltransferase [YibK]”, 第 1 回モデル生物丸ごと一匹学会・第 10 回高度好熱菌連携会議、理研・播磨 (SPring-8) August 19, 2011
- (53) R. Yamagami, K. Yamashita, H. Nishimasu, C. Iwashita, **A. Hirata**, O. Nureki, and **H. Hori**, “Substrate tRNA recognition mechanism of FAD/folate-dependet tRNA m⁵U54 methyltransferase TrmFO”, 16th Annual Meeting of RNA Society (RNA 2011Kyoto), Kyoto, June 16, 2011
- (54) C. Tomikawa, K. Ishida, T. Kunibayashi, A. Ochi, T. Kanai, **A. Hirata**, C. Iwashita, and **H. Hori**, “Regulation of tRNA modification network by pseudouridine 55 in *Thermus thermophilus*”, 16th Annual Meeting of RNA Society (RNA 2011Kyoto), Kyoto, June 16, 2011
- (55) **A. Hirata**, T. Kitajima, and **H. Hori**, “A conserved Lys residue in Crenarchaea specific loop determines a broad substratespecificity of Crenarchaeal RNA splicing endonuclease.”, 16th Annual Meeting of RNA Society (RNA 2011Kyoto), Kyoto, June 16, 2011
- (56) T. Awai, A. Ochi, Ihsanawati, **A. Hirata**, Y. Bessho, S. Yokoyama, and **H. Hori** “Transfer RNA recognition mechanism of multi-site specific tRNA methyltransferase (Trm1) from *Aquifex aeolicus*”, 16th Annual Meeting of RNA Society (RNA 2011Kyoto), Kyoto, June 16, 2011
- 〔図書〕(計 2 件)
- (1) **堀 弘幸** 「生命分子を統合する RNA-その秘められた役割と制御機構」1-3「tRNA 修飾の構造と機能」
実験医学増刊号, p37-46, 羊土社 (2013)
- (2) C. Tomikawa and **H. Hori**, “Degradation of hypo-modified tRNA in *Thermus thermophilus*, an extreme-thermophilic eubacteria.”,
Advanced in Genetic Research, Vol. 6 (K. V. Urbano eds) pp391-396, Nova Science Publisher (2011)
- 〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)
- 〔その他〕
ホームページ等
<http://www.ehime-u.ac.jp/~achem/bchem/>
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
堀 弘幸 (HORI, Hiroyuki)
愛媛大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：20256960
- (2) 研究分担者
鈴木 勉 (SUZUKI, Tsutomu)
東京大学・大学院工学系研究科・教授
研究者番号：20292782
- (3) 研究分担者
平田 章 (HIRATA, Akira)
愛媛大学・大学院理工学研究科・講師
研究者番号：60527381