

平成 22 年 6 月 21 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2009

課題番号：19207013

研究課題名（和文） RNA 修飾が関与する遺伝子発現調節機構と高次生命現象

研究課題名（英文） Post-transcriptional regulation associated with RNA modifications responsible for higher order biological processes

研究代表者

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

研究成果の概要（和文）：

本研究課題では RNA の転写後修飾に着目し、RNA が関与する遺伝子発現調節機構と高次生命現象の探索と解明を目標とした。特に、マウス精巣に発現する piRNA の末端が 2'-O-メチル化修飾されていることを見出し、そのメチル化酵素の機能解析を行った。mRNA の修飾に関しては、ヒトの脳において大量に存在することが知られているイノシン化修飾に着目した。イノシン特異的な化学修飾と逆転写 PCR を組み合わせた手法（Inosine Chemical Erasing 法）を開発し、成人ヒト脳由来 RNA に含まれる新規イノシン化部位を 16,000 箇所以上同定した。さらに ICE 法と deep sequencing を組み合わせた新規手法 ICE-Seq を考案し、ゲノムワイドにイノシン化部位の探索を開始した。

研究成果の概要（英文）：

This project aimed to study post-transcriptional regulation associated with RNA modifications responsible for higher order biological processes. We found that piwi-interacting RNAs (piRNA) expressed in mouse testis have 2'-O-methylation at their 3' termini, and characterized the methyltransferase responsible for this modification. Concerning mRNA modifications, we took notice on inosines that are abundantly introduced in RNAs from human brain. We have established a biochemical method, named "inosine chemical erasing (ICE)", to directly identify inosines on RNA strands. We have mapped more than 16,000 novel sites of inosines in human brain transcriptome. Furthermore, we have started a project of genome-wide identification of inosine sites by using the ICE-method combined with the deep sequencing (ICE-Seq).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	20,000,000	6,000,000	26,000,000
2008 年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
2009 年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
年度			
年度			
総計	39,400,000	11,820,000	51,220,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード:

RNA 修飾、RNA エディティング、イノシン、メチル化、piRNA

### 1. 研究開始当初の背景

遺伝子の発現調節機構は生命を理解する上で最も重要な課題の一つであり、発生や分化さらには疾患に伴う細胞の状態変化と遺伝子の発現状況には密接な関係が存在する。転写調節はその根幹を担うものとして注目されているが、近年のトランスクリプトームやプロテオームなどの網羅的な解析から、mRNAとタンパク質の発現プロファイルが必ずしも一致しないという事実や、マイクロRNAやアンチセンスRNAなどに代表される非コードRNA(non-coding RNA, 以下ncRNA)による様々な発現調節機構の発見により、転写後の調節機構の存在が遺伝子発現において、もう一つの重要な要素であることを示唆している。RNAは転写後に様々な修飾を受けて成熟し、はじめてその本来の機能を発揮することができる。これまでに知られているRNA修飾は100種類を超えている。RNA修飾はmRNAやあらゆるncRNAに普遍的に存在し、RNAが機能する上でこれらの修飾は見過ごすことのできない重要な質的情報である。RNA修飾の果たす役割としては、細胞内局在の決定、立体構造の安定化、RNA結合タンパク質との相互作用、遺伝情報の修飾と解読などが知られているが、その機能と生合成過程には未解明な部分が多く残されている。これまでに研究代表者は、細胞内に存在する微量RNAを単離精製する技術の開発や、高感度質量分析法を用いて単離したRNAを直接解析する手法を開発し、RNA修飾の生合成過程や高次生命現象に関する研究を行ってきた。特にヒトミトコンドリアtRNAに存在する新規のRNA修飾の発見と、その転写後修飾の欠損、更にはそれに伴う遺伝暗号解読異常が、ミトコンドリア脳筋症の根本原因であることを見出してきたが、この例はRNAの修飾異常が疾患の原因であることを示した世界で初めての例である。また、RNAの細胞内局在が転写後修飾の化学構造の違いによって決定されることも明らかにしてきた。また、RNA修飾の生合成遺伝子を網羅的に探索するために、リボヌクレオーム解析を開発し、大腸菌および酵母の機能未知遺伝子群より多くの新規遺伝子を同定することに成功している。すでにそのうちのいくつかに関しては機能解析と試験管内でのRNA修飾の再構成に成功し、構造生物学的および生化学的なアプローチからRNA修飾反応の

分子機構を解明している。これらのRNA修飾遺伝子のホモログはヒトにも存在し、ミトコンドリアに局在するチオウリジン修飾酵素の変異がヒトの難聴を引き起こすリスクファクターになっていることを見出している。

### 2. 研究の目的

研究代表者は本課題においてncRNAの質的な側面、特にRNAの転写後修飾に着目し、RNAが関与する遺伝子発現調節機構と高次生命現象の探索と解明を目標とした。具体的には、(1)piRNAの末端修飾の解析と機能解析、(2)mRNA修飾の網羅的探索と機能解析、(3)ヒトRNA修飾遺伝子の解析とRNA修飾異常に起因する疾患の探索を行う。

### 3. 研究の方法

piRNA(piwi-interacting RNA)は精巣特異的に発現する約30塩基のncRNAである。piRNAは精子形成に必須なPiwiファミリータンパク質(MIWIやMILI)に結合して存在し、細胞質のポリソーム画分に局在することから、特定のmRNAの翻訳制御に関わっていることが示唆されている。piRNAはいくつかの染色体領域の片方の鎖由来の配列から由来し、その生合成機構には未解明な点が多く残されている。PiwiファミリーはRNAiマシナリーのArgonauteタンパクと同じカテゴリーに属することから、piRNA-Piwiタンパク質複合体はRNA干渉と類似の機構で作用している可能性もある。研究代表者らは、高感度質量分析法を用いて、マウス精巣由来のpiRNAを解析したところ、ほとんどすべてのpiRNAの3'末端が修飾されていることを見出した(未発表)。本課題では、この修飾構造の決定と、修飾酵素の探索および生合成機構の解明を行う。具体的には、マウス精巣からpiRNAを調製し、当研究室で開発された往復循環クロマトグラフィーで複数のpiRNAを単離精製し、キャピラリーLCナノESI質量分析法で修飾構造の決定を行う。修飾酵素に関しては類似の化学構造を有する既知のRNA修飾酵素のホモログの探索や、精巣のライセートを用いた修飾活性を指標に酵素の精製を試みる。最終的にはpiRNAの修飾が精子形成にどのように関わっているかの詳細を解明していく予定である。

mRNAには5'末端のキャップ構造と近傍の2'-O-メチル化修飾(Nm)が古くから知られている。また、バイオインフォマティクスの手法を用いたcDNAの比較解析から、mRNA中に

イノシン(I)修飾が、大量に存在している可能性が指摘されている。しかし多くの場合、SNPであったり、偽遺伝子由来のシグナルであったり、シーケンスのエラーなど不確定な要素が多く、きちんと同定されていないのが現状である。研究代表者らは、イノシン特異的修飾と逆転写 PCR 法を組み合わせた手法により個々のイノシン修飾を確実にかつ定量的に同定する方法(ICE法: inosine chemical erasing)を開発した。ICE法による解析から、イノシン化効率が60%以上の箇所に関しては、cDNAの比較解析からA/G混在のシグナルとして見えているのに対し、60%未満の箇所に関しては、cDNAの比較からは見出すことができないことが判明した。したがって、このようなウェット解析で実験的にきちんと同定する必要がある。最終的には、約2万箇所以上のイノシン化部位が存在していると考えられるが、本課題ではできるだけたくさんのイノシン化部位を同定し、RNAエディティングデータベースの構築を目指す。これまでの解析でイノシン修飾はmRNAの3'UTRに多く存在することから、これらが、マイクロRNAによる認識を制御する可能性について検証していきたい。

#### 4. 研究成果

マウス精巣から調製したpiRNAをLC/MSを用いて詳細に解析したところ、3'末端が2'0メチル基で修飾されていることを明らかにした(NSMB, 2007)。また、塩見研究室(慶大医)との共同研究を行い、ショウジョウバエのpiRNAの3'末端も2'0メチル基で修飾されていることを明らかにした。更にそのメチル化酵素が同定されPimetと命名された(GD, 2007)。マウスPimetの発現解析、およびin vitroメチル化反応を用いた機能解析を行った。piRNAメチル化酵素は生殖細胞内において、miRNA前駆体を基質にしないことが知られているが、pre-miRNAの5'末端のリン酸基がメチル化されないための決定因子になっていることを明らかにした。また、in situ hybridizationの結果、piRNAメチル化酵素は一次精母細胞で強く発現していることが判明した。

イノシン化部位は逆転写反応でcDNAに変換するとGとして読まれるため、見掛け上、AからGへ配列が編集される。イノシン化部位を同定するために、従来法では、同一組織または細胞由来のゲノムとRNAをそれぞれPCRと逆転写PCRで増幅し、配列を比較することでイノシン化部位を特定している。しかし、この手法では偽遺伝子由来のシグナルや、シーケンスエラーやノイズなどと識別するのが困難であるなどの問題がある。我々はイノシン塩基特異的な化学修飾と逆転写反応を組み合わせた生化学的なイノシン化

部位特定法であるICE(inosine chemical erasing)法を開発した。化学修飾剤としてアクリロニトリルを用い、イノシン塩基の1位を特異的にシアノエチル化することで、逆転写によるcDNAの伸長をイノシン化部位の手前で止めることができる。したがって化学修飾の処理と未処理で逆転写PCRを行いcDNAを比較することで、イノシン由来のGのシグナルを特異的に消失することが可能になる。この手法により、イノシン修飾を、アレル間のSNPやシーケンスエラーやノイズと明確に区別することができるようになった。また、ゲノムワイドなイノシン修飾の解析作業と同定部位の登録作業の効率化を図るため、各配列データのアライメント、イノシン化部位の正誤判定、イノシン化率の測定、データベースへの登録・閲覧を半自動的に行えるソフトウェア(ICE-CAFÉ)を開発した。

まずは、公開されている約500万のESTデータベースとヒトゲノム配列の比較から絞り込まれたA/G置換部位をA-to-Iエディティング候補部位とし、ICE法を用いたゲノムワイドな解析を行った。最終的に、約4,000領域の解析を実施し、20,361箇所のイノシン化部位を特定した。解析した領域にはイスラエルのCompugenのグループが計算科学的な手法で予測したイノシン化部位が6,154箇所含まれていたが、このうちイノシンであることが確認できた箇所は3,764箇所(57%)に留まった。残りの4割強の箇所については、EST上で見られるSNPやシーケンスの違い、あるいは我々が解析した個体では観測されないイノシン化部位であると考えられる。一方で全体の82%に相当する16,597箇所に関しては完全に新規部位であり、我々のICE法による同定手法の優位性が示されたことになる。同定された部位の多くはmRNAの長鎖3'UTR内に存在するAlu反復配列上に存在した。ESTデータベースや各mRNAについての報告から、これらmRNAにはバリエーションが存在し、イノシン化部位領域を全く含まない短鎖3'UTRを持つものとイノシン化部位領域を含む長鎖3'UTRをもつものが共存することが考えられる。

さらに網羅的にイノシン化部位を特定する手法として、ICE法と次世代シーケンサー(Genome analyzer, Solexa)を組み合わせた手法(ICE-Seq)を考案した。なお、次世代シーケンサーによる解析は支援班(豊田先生、藤山先生)との共同研究である。解析対象のRNAをイノシン特異的なシアノエチル化の処理(ICE-)と未処理(ICE+あるいはICE++)で調製し、cDNAを大量シーケンスを行い、全遺伝子に貼り付けた後で、ICE-の条件でA/G置換部位を検出する。イノシン化部位はシアノエチル化後(ICE+あるいはICE++)でイノシン由来のGのリードが特異的に減少する

ため、情報処理を行うことでイノシン化部位の検出が可能である。ヒト成人脳由来のポリA+RNA をシアノエチル化の処理と未処理で調製し、mRNA-Seq のプロトコルで約 300 塩基対の cDNA を合成した。Genome analyzer を用い、75 塩基長のペア-エンドで最終的に 27 レーン分の解析を行っていただいた。10 億リード、740 億塩基分の配列が得られた。マッピングソフトウェアに BWA5.1 を使用し、UCSC gene をリファレンス配列として各リードを貼り付けたところ、全体の約 6 割のリードを貼り付けることができた。結果として、ICE-が 160 億塩基、ICE+が 130 億塩基、ICE++ (強条件) が 140 億塩基分のデータが得られた。遺伝子に貼り付けたリードの平均重複度が 20 X 以上のものを解析対象とした。G のリードの特異的な減少を指標にイノシン化部位を絞り込んだところ、現時点で 5,647 箇所のイノシン化候補部位を絞り込むことに成功した。実際この中に、我々が先に特定したイノシン化部位が 1,285 箇所含まれていた。また、コーディング配列内には、235 か所の候補部位が見出されたが、実際この中に、既報の 19 箇所が含まれていることから、ICE-Seq の同定精度の高さが窺える。

## 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 39 件)

Suzuki, T. \* and Miyachi, K. Discovery and characterization of tRNA<sup>Leu</sup> lysidine synthetase (TlS)

*FEBS Lett.*, 584, 272-277 (2010)

Kimura, S. and Suzuki, T.\* Fine-tuning of the ribosomal decoding center by conserved methyl-modifications in the Escherichia coli 16S rRNA

*Nucleic Acids Res.*, 38, 1341-1352 (2010)

Shoji, M., Tanaka, T., Hosokawa, M., Reuter, M., Stark, A., Kato, Y., Kondoh, G., Okawa, K., Chujo, T., Suzuki, T., Hata, K., Martin, S. L., Noce, T., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Sasaki, H., Pillai, R. S., and Nakatsuji, N. and Chuma, S. The TDRD9-MIWI2 complex is essential for piRNA-mediated retrotransposon silencing in

the mouse male germline Germline

*Dev Cell*, 17, 775-787 (2009)

Nakanishi, K., Bonnefond, L., Kimura, S., Suzuki, T., Ishitani, R. and Nureki, O. Structural basis for translational fidelity ensured by tRNA lysidine synthetase

*Nature*, 461, 1144-1148 (2009)

Messmer, M., Pütz, J., Suzuki, T., Suzuki, T., Sauter, C., Sissler, M. and Florentz, C. 3D-structure of mammalian mitochondrial tRNA<sup>Asp</sup> revealed by solution probing and phylogeny

*Nucleic Acids Res.*, 37, 6881-6895 (2009)

Umitsu, M., Nishimasu, H., Noma, A., Suzuki, T., Ishitani, R. and Nureki, O. Structural basis of AdoMet-dependent aminocarboxypropyl transfer reaction catalyzed by tRNA-wybutosine synthesizing enzyme, TYW2

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106, 15616-15621 (2009)

Nagao, A., Suzuki, T., Katoh, T., Sakaguchi, Y. and Suzuki, T.\* Biogenesis of glutamyl-tRNA<sup>Gln</sup> in human mitochondria

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106, 16209-16214 (2009)

Valente, L., Shigi, N., Suzuki, T. and Zeviani, M. The R336Q mutation in human mitochondrial EFTu prevents the formation of an active mt-EFTu•GTP•aa-tRNA ternary complex

*Biochim Biophys Acta.*, 1792, 791-795 (2009)

Awai, T., Kimura, S., Tomikawa, C., Ochi, A., Ihsanawati, Bessho, Y., Yokoyama, S., Ohno, S., Nishikawa, K., Yokogawa, T., Suzuki, T. and Hori, H. Aquifex aeolicus tRNA<sup>N2</sup> (N2-guanine)-dimethyltransferase (Trm1) catalyzes transfer of methyl groups not only to guanine 26 but also to guanine 27 in tRNA

*J. Biol. Chem.*, 284, 20467-20478 (2009)

Kitahara, K. and Suzuki, T.\* The ordered transcription of RNA domains is not essential for ribosome biogenesis

*Mol Cell.*, 34, 760-766 (2009)

Suzuki, Y., Noma, A., Suzuki, T., Ishitani, R. and Nureki, O. Structural basis of tRNA modification with CO<sub>2</sub> fixation and methylation by wybutosine synthesizing enzyme TYW4

*Nucleic Acids Res.*, 37, 2910-2925 (2009)

Chimnarong, S., Suzuki, T., Manita, T., Ikeuchi, Y., Yao, M., Suzuki, T. and Tanaka, I. RNA helicase module in an acetyltransferase that modifies a specific tRNA anticodon

*EMBO J.*, 28, 1362-1373 (2009)

Ogata, T., Shimazaki, T., Umemoto, T., Kurata, S., Ohtsuki, T., Suzuki, T. and Wada, T. Chemical synthesis and properties of 5-taurinomethyluridine and 5-taurinomethyl-2-thiouridine

*J. Org. Chem.*, 74, 2585-2588 (2009)

Katoh, T., Sakaguchi, Y., Miyachi, K., Suzuki, T., Kashiwabara, S., Baba, T. and Suzuki, T.\* Selective stabilization of mammalian microRNAs by 3'-adenylation mediated by the cytoplasmic poly(A) polymerase GLD-2

*Genes Dev.*, 23, 433-438 (2009)

Noma, A., Shigi, N. and Suzuki, T.\* Biogenesis and functions of thio-compounds in transfer RNA: comparison of bacterial and eukaryotic thiolation machineries

*DNA and RNA modification enzymes* (Book LANDES), ed Grosjean, H. (2009)

Noma, A., Sakaguchi, Y. and Suzuki, T.\* Mechanistic characterization of the sulfur-relay system for eukaryotic 2-thiouridine biogenesis at tRNA wobble positions

*Nucleic Acids Res.*, 37, 1335-1352 (2009)

Ohira, T., Miyachi, K., Sakaguchi, Y., Suzuki, T. and Suzuki, T. Precise analysis of modification status at various stage of tRNA maturation in *Saccharomyces cerevisiae*

*Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 53, 301-302 (2009)

Shigi, N., Sakaguchi, Y., Asai, S., Suzuki, T. and Watanabe, K. Common Sulfur Transfer System for the Biosyntheses of Sulfur-containing tRNA and Cofactors

*EMBO J.*, 27, 3267-3278 (2008)

Ikeuchi, Y., Kitahara, K. and Suzuki, T.\* The RNA acetyltransferase driven by ATP hydrolysis synthesizes N4-acetylcytidine of tRNA anticodon

*EMBO J.*, 27, 2194-2203 (2008)

Nagao, A., Shigi-Hino, N. and Suzuki, T.\* Measuring mRNA decay in human mitochondria

*Methods in Enzymol.*, 447, 489-499 (2008)

Yokoyama, T. and Suzuki, T.\* Ribosomal RNAs are tolerant toward genetic insertions: Evolutionary origin of the expansion segments

*Nucleic Acids Res.*, 36, 3539-3551 (2008)

Kurata, S., Weixlbaumer, A., Ohtsuki, T., Shimazaki, T., Wada, T., Kirino, Y., Takai, K., Watanabe, K., Ramakrishnan, V. and Suzuki, T.\* Modified uridines with C5-methylene substituents at the first position of the tRNA anticodon stabilize U•G wobble pairing during decoding

*J. Biol. Chem.*, 283, 18801-18811. (2008)

Nagaike, T., Suzuki, T. and Ueda, T. Polyadenylation in mammalian mitochondria: Insights from recent studies

*Biochim Biophys Acta*, 1779, 266-269. (2008)

Funakoshi, Y., Doi, Y., Hosoda, N., Uchida, N., Osawa, M., Shimada, I., Tsujimoto, M., Suzuki, T., Katada, T. and Hoshino, S. Mechanism of mRNA deadenylation: evidence for a molecular interplay between translation termination factor eRF3 and mRNA deadenylases

*Genes Dev.*, 21, 3135-3148. (2007)

Tsutsumi, S., Sugiura, R., Ma, Y., Tokuoka, H., Ohta, K., Ohte, R., Noma, A., Suzuki, T. and Kuno, T. Wobble inosine tRNA modification is essential for cell cycle progression in G1/S and G2/M transitions in fission yeast

*J. Biol. Chem.*, 282, 33459-33465. (2007)

Suzuki, Y., Noma, A., Suzuki, T., Senda, M., Senda, T., Ishitani, R. and Nureki, O. Crystal structure of the radical SAM enzyme catalyzing tricyclic modified base formation in tRNA

*J. Mol. Biol.*, 372, 1204-1214. (2007)

Saito, K., Sakaguchi, Y., Suzuki, T., Suzuki, T., Siomi, H. and Siomi, M.C. Pimet, the Drosophila homolog of HEN1, mediates 2'-O-methylation of Piwi-interacting RNAs at their 3' ends

*Genes Dev.*, 21, 1603-1608 (2007)

Kitahara, K., Kajiuura, A., Sato, N.S. and Suzuki, T.\* Functional genetic selection of Helix 66 in Escherichia coli 23S rRNA identified the eukaryotic class of binding sequences for ribosomal protein L2

*Nucleic Acids Res.*, 35, 4018-4029. (2007)

Suzuki, T., Sakaguchi, Y. and Suzuki, T.\* Mass spectrometric analysis of 3'-terminal nucleosides in non-coding RNAs

*Nat Protoc.*, DOI: 10.1038/nprot.2007.185 (2007)

Dunham, C.M., Selmer, M., Phelps, S.S., Suzuki, T., Joseph, S. and Ramakrishnan, V. Structures of tRNAs with an expanded anticodon loop in the decoding center of the 30S Ribosomal Subunit

*RNA*, 13: 817-823. (2007)

Ohara, T., Sakaguchi, Y., Suzuki, T., Ueda, H., Miyauchi, K. and Suzuki, T.\* The 3'-termini of mouse piwi-interacting RNAs are 2'-O-methylated

*Nat Struct Mol Biol.*, 14, 349-350. (2007)

Nakai, Y., Nakai, M., Lill, R., Suzuki, T. and Hayashi, H. Thio modification of yeast cytosolic tRNA is an iron-sulfur protein-dependent pathway

*Mol Cell Biol.*, 27, 2841-2847. (2007)

Suzuki, T. and Suzuki, T.\* Chaplet column chromatography: isolation of a large set of individual RNAs in a single step.

*Methods in Enzymol.*, 425, 231-239. (2007)

Suzuki, T.\*, Ikeuchi, Y., Noma, A., Suzuki, T. and Sakaguchi, Y. Mass spectrometric identification and characterization of RNA-modifying enzymes.

*Methods in Enzymol.*, 425, 211-229. (2007)

Miyauchi, K., Ohara, T. and Suzuki, T.\* Automated parallel isolation of multiple species of non-coding RNAs by the reciprocal circulating chromatography method

*Nucleic Acids Res.*, 35, e24. (2007)

Katoh, T. and Suzuki, T.\* Specific residues at every third position of siRNA shape its efficient RNAi activity

*Nucleic Acids Res.*, 35, e27. (2007)

Yokoyama, T. and Suzuki, T. Ligand-induced translation by the allosteric ribosome bearing an aptamer-fused rRNA.

*Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 51, 383-384 (2007)

Nagao, A., Suzuki, T. and Suzuki, T. Aminoacyl-tRNA surveillance by EF-Tu in mammalian mitochondria.

*Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 51, 41-42 (2007)

Tomita, K., Numata, T., Fukai, T., Suzuki, T., Ishitani, R. and Nureki, O. Animated Crystallography of Genetic Code Translation.

*Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 51, 101-102 (2007)

[学会発表] (計 50 件)

2007 年 4 月 7 日

化学とバイオの架け橋(本郷)

機能性 RNA のマスマススペクトロメトリー～見過ごされている RNA の質的な情報と高次生命現象へのアプローチ～

鈴木 勉(invited)

2007 年 4 月 24 日

お茶の水がん学アカデミア第 34 回集会(東京)

RNA 修飾の多彩な機能と生命現象

鈴木 勉(invited)

2007 年 5 月 30 日

細胞生物学会/発生生物学会シンポジウム「Frontiers in RNA Biology」(福岡)

RNA mass spectrometry reveals qualitative aspects of non-coding RNAs

鈴木 勉(invited)

2007 年 6 月 1 日

RNA 2007: 12th Annual Meeting of the RNA Society (Madison)

Mass spectrometric characterization of small non-coding RNAs;

identification of 2'-O-methylation at the 3'-termini of mouse

piwi-interacting RNAs

Tsutomu Suzuki, Tomoya Ohara, Takeo Suzuki, Hiroki Ueda, Takeshi Seguchi, Kenjyo Miyauchi, Yuriko Sakaguchi

2007 年 6 月 5 日

Ribosome2007: Form and Function  
Cape Cod, USA MECHANISTIC AND ARCHITECTURAL ANALYSIS OF E. COLI RIBOSOMAL RNAS USING THE COMPREHENSIVE GENETIC SELECTION

Neuza S. Sato, Kei Kitahara, Takeshi Yokoyama, Naomi Hirabayashi, Taeko Komoda, Steven S. Phelps, Simpson Joseph, Rajendra K. Agrawal, Ilana Agmon, Ada Yonath and Tsutomu Suzuki

2007年7月31日  
日本ヒトプロテオーム機構(JHUPO)第5回大会(東京)  
RNA mass spectrometry: a platform technology for non-coding RNA research  
鈴木 勉(invited)

2007年7月28日  
RNA 分子のダイナミズムー生命現象の根幹をなす機能性 RNA(名古屋)  
RNA 修飾が関与する生命現象へのアプローチ  
鈴木 勉(invited)

2007年7月28-31日  
第9回日本 RNA 学会年会(名古屋)  
精子形成における哺乳類 piRNA メチル化酵素の機能解析  
長岡 真、大原智也、中川真一、加藤敬行、五島直樹、野村信夫、鈴木健夫、坂口裕理子、鈴木 勉

2007年7月31日  
日本プロテオーム機構(JHUPO)第5回大会(東京)  
RNA マススペクトロメトリー  
鈴木 勉(invited)

2007年8月7-9日  
Yonsei University-The University of Tokyo Joint Symposium(ソウル)  
Mass spectrometric characterization of small non-coding RNAs  
Tsutomu Suzuki(invited)

2007年11月1-6日  
22nd International tRNA Workshop(ウブサラ)  
Quality control of aminoacyl-tRNAs by kinetic competition of aminoacyl-tRNA synthetases and EF-Tu surveillance in mammalian mitochondria  
Asutaka Nagao, Takeo Suzuki, Tsutomu Suzuki

2007年11月1-6日  
22nd International tRNA Workshop(ウブサラ)  
Genome-wide identification of genes responsible for 2-thiolation of 5-methoxycarbonylmethyl-2-thiouridine (mcm5s2U) at wobble position of yeast tRNAs  
Akiko Noma, Tsutomu Suzuki

2007年11月1-6日  
22nd International tRNA Workshop(ウブサラ)  
TmcA catalyzes 4-acetylcytidine formation at wobble position of bacterial tRNAMet  
Yoshiho Ikeuchi, Sarin Chimnaronk, Min Yao, Isao Tanaka and Tsutomu Suzuki

2007年11月20-22日  
第5回国際核酸化学シンポジウム(NACS2007)(東京)  
Aminoacyl-tRNA surveillance by EF-Tu in mammalian mitochondria.  
Asutaka Nagao, Takeo Suzuki, Tsutomu Suzuki

2007年11月20-22日  
第5回国際核酸化学シンポジウム(NACS2007)(東京)  
Ligand-induced translation by the allosteric ribosome

bearing an aptamer-fused rRNA  
Takeshi Yokoyama and Tsutomu Suzuki

2007年12月11-15日  
第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学大会合同大会(BMB2007)(横浜)  
Small non-coding RNA の直接解析で見えてきたもの  
鈴木 勉(invited)

2008年1月28日  
東工大生命理工 GCOE シンポジウム「ようこそ先輩」(長津田)  
RNA に魅せられてー企業での経験をアカデミックな研究に生かす  
鈴木 勉(invited)

2008年6月1-5日  
56th ASMS Conference on Mass Spectrometry(Denver)  
RNA mass spectrometry: a platform technology for non-coding RNA research  
Yuriko Sakaguchi, Hiroki Ueda, Takeo Suzuki, Takayuki Katoh, Takeshi Seguchi, Kenryo Miyauchi and Tsutomu Suzuki

2008年6月4日  
RNA フロンティアミーティング 2008(京都)  
“自分らしい”RNA 研究を追い求めてきて  
鈴木 勉(invited)

2008年7月23-25日  
第10回日本 RNA 学会年会(札幌)  
酵母 tRNA ウォブル位のチオウリジン修飾はユビキチン様の反応機構を経由する  
野間章子、鈴木 勉

2008年7月23-25日  
第10回日本 RNA 学会年会(札幌)  
往復循環クロマトグラフィー法による non-coding RNA の全自動単離精製  
宮内健常、坂口裕理子、鈴木健夫、鈴木 勉

2008年7月23-25日  
第10回日本 RNA 学会年会(札幌)  
マイクロ RNA 前駆体に見出された Dicing 部位を規定する基質モチーフと miRNA の3'末端形成加藤敬行、坂口裕理子、宮内健常、鈴木健夫、鈴木 勉

2008年7月23-25日  
第10回日本 RNA 学会年会(札幌)  
大腸菌 23S rRNA の円順列変異の取得とリボソーム構築原理の新知見  
北原 圭、鈴木 勉

2008年7月28-8月3日  
13th annual meeting of the RNA society (RNA2008)(Berlin)  
Mass spectrometric identification of non-coding RNAs in ribonucleoprotein complexes in yeast  
Takayuki Ohira, Yuki Takeuchi, Yuriko Sakaguchi, Hiroki Ueda, Takeo Suzuki and Tsutomu Suzuki

2008年9月10日  
発生工学・疾患モデル研究会「第70回定例会」(東京)  
RNAマッサペクトロメトリー ―機能性RNAの直接解析で見えてきたもの―  
鈴木 勉(invited)

2008年10月22日  
2008質量分析計 ユーザーズフォーラム(東京)  
RNAマッサペクトロメトリー ―機能性RNAの直接解析で見えてきたもの―  
鈴木 勉(invited)

2008年12月10日  
第6回日本分子生物学会三菱化学奨励賞 受賞講演(神戸)  
RNA修飾の生合成と機能に関する研究 (Biogenesis and functions of RNA modifications)  
鈴木 勉(invited)

2008年12月12日  
第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学大会合同大会(BMB2008)(神戸)  
Mass spectrometric identification of non-coding RNAs in ribonucleoprotein complexes; biochemical approach to RNA-protein interactome"  
鈴木 勉(invited)

2009年1月12-16日  
Gordon Research Conference for RNA editing(Galveston)  
Large scale identification of A-to-I editing sites in the human brain transcriptome by the ICE method; implication for modulatory effect of A-to-I editing on translational repression mediated by miRNAs  
Masayuki Sakurai, Takanori Yano, Shunpei Okada, Hitomi Kawabata, Totai Mitsuyama, Hiroki Ueda and Tsutomu Suzuki

2009年4月18日  
Experimental biology 2009(New Orleans)  
Circular permutants of the ribosomes in the cell  
Kei Kitahara, Tsutomu Suzuki

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
出芽酵母 tRNA 前駆体の細胞質から核への逆行性の輸送が塩基修飾の形成に関わる  
大平高之、鈴木 勉

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
RNAドメインの序列的な転写はリボソームの生合成に必須ではない  
北原圭、鈴木 勉

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
イントロン領域における A-to-I RNA エディティングの機能解析  
矢野孝紀、櫻井雅之、上田宏生、岡田俊平、川畑瞳、

鈴木 勉

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
大腸菌 RlmKL は 23S rRNA 中における 2 種類の異なるメチル化塩基の生合成を触媒する新しいタイプの RNA 修飾酵素である  
Satoshi Kimura, Yoshiho Ikeuchi, Takeo Suzuki, Kei Kitahara, Yuriko Sakaguchi and Tsutomu Suzuki

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
往復循環クロマトグラフィーを用いた微量 RNA の全自動単離精製と修飾解析  
宮内健常、坂口裕理子、鈴木健夫、鈴木 勉

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
A-to-I RNA editing による miRNA 依存的翻訳制御の調節  
矢野孝紀、櫻井雅之、上田宏生、岡田俊平、川畑 瞳、鈴木 勉

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
ICE 法と次世代シーケンサーを組み合わせたヒト成人脳由来 RNA 中に含まれるイノシン化部位の網羅的探索  
上田宏生、櫻井雅之、川畑瞳、光山統泰、矢野孝紀、岡田俊平、豊田敦、藤山秋佐夫、鈴木 勉

2009年7月27-29日  
第11回日本RNA学会年会(新潟)  
ヒト転写産物における RNA エディティング部位探索と機能解析  
櫻井雅之、川畑瞳、矢野孝紀、岡田俊平、光山統泰、豊田敦、藤山秋佐夫、上田宏生、鈴木 勉

2009年9月16日  
KAST セミナー、機能性 RNA コース～機能性 RNA の歴史と応用展開～(神奈川)  
RNA の直接解析で見えてきたもの～microRNA がある質的な情報と選択的安定化機構～  
鈴木 勉 (invited)

2009年10月23日 第82回日本生化学会年会(神戸)トッパンナーズレクチャー  
RNA の直接解析で見えてきたもの  
鈴木 勉 (invited)

2009年10月21-24日  
第82回日本生化学会年会(神戸)  
マッサペクトロメトリーによる miRNA の直接プロファイリングと miRNA の特異的安定化機構の発見  
坂口裕理子、加藤敬行、上田宏生、宮内健常、柏原真一、馬場忠、姜 秉一、栗原靖之、鈴木健夫、鈴木 勉

2009年9月27-10月1日  
国際核酸化学シンポジウム(富山)  
Precise analysis of modification status at various stage of tRNA maturation in *Saccharomyces cerevisiae*

Takayuki Ohira, Kenjyo Miyauchi, Yuriko Sakaguchi, Takeo Suzuki, Tsutomu Suzuki

2009年11月6日

Joint Symposium of the 5th Annual Meeting of OTS and The 19th Antisense Symposium(福岡)

Direct analysis of small non-coding RNAs by mass spectrometry

Tsutomu Suzuki(invited)

2009年12月9-12日

第32回日本分子生物学会年会(横浜)

A landscape of A-to-I RNA editing in human transcriptome: a hidden layer of gene expression produced by qualitative information embedded in RNA molecules

Tsutomu Suzuki, Hiroki Ueda, Takanori Yano, Shunpei Okada, Hideki Terajima, Totai Mitsuyama, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, Hitomi Kawabata and Masayuki Sakurai

2009年12月10日

第32回日本分子生物学会年会(横浜)

The acetylation of 18S rRNA is an essential modification to synthesize the small subunit of eukaryotic ribosome

Satoshi Ito, Yu Akamatsu, Akiko Noma, Satoshi Kimura, Yoshiho Ikeuchi, Yoshikazu Tanaka, Kenjyo Miyauchi, Isao Tanaka, Takeo Suzuki and Tsutomu Suzuki

2010年1月28-2月2日

The 23rd tRNA workshop (Aveiro)

Biogenesis of Gln-mt tRNA<sup>Gln</sup> in human mitochondria Asuteka Nagao, Takeo Suzuki, Takayuki Katoh, Yuriko Sakaguchi and Tsutomu Suzuki

2010年1月28-2月2日

The 23rd tRNA workshop (Aveiro)

Novel wobble modification in tRNA<sup>Ile</sup> responsible for decoding AUA codon in archaeal species; convergent evolution of the decoding system across domains of life Satoshi Kimura, Yoshiho Ikeuchi, Tomoyuki Numata, Daigo Nakamura, Takashi Yokogawa, Kazuya Nishikawa, Takeshi Wada, Takeo Suzuki and Tsutomu Suzuki

2010年1月28-2月2日

The 23rd tRNA workshop (Aveiro)

A landscape of tRNA modifications: complete chemical structures of total 48 species of Escherichia coli tRNAs determined by mass spectrometry

Kenjyo Miyauchi, Yuriko Sakaguchi, Takeo Suzuki and Tsutomu Suzuki

2010年1月28-2月2日

The 23rd tRNA workshop (Aveiro)

Requirements for in vitro formation of 5-carboxymethylaminomethyluridine at the wobble position in Escherichia coli tRNAs

Takeo Suzuki, Tomoyuki Numata, Takuo Osawa and Tsutomu Suzuki

2010年2月15日

臨床応用を目指した最前線セミナー～microRNAを標的とした診断・治療の開発に向けて～(東京)

RNAの直接解析で見えてきたもの～microRNAが有する質的な情報と選択的安定化機構～

鈴木 勉 (invited)

〔図書〕(計10件)

「ミトコンドリア脳筋症と tRNA のタウリン修飾欠損」鈴木 勉、鈴木健夫 細胞工学 2月号 137-143 (2010)

「マスマスペクトロメリーを用いた miRNA の直接プロファイリング」坂口裕理子、鈴木 勉 分子細胞治療 Vol. 8 (No. 5) 36-41 (2009)

「細胞質に局在する GLD-2 による 3'末端アデニル化と miRNA の選択的安定化機構」加藤敬行、鈴木 勉 実験医学 Vol. 27 (No. 11)7月号、1746-1750(2009)

「mRNA の塩基修飾・編集と遺伝子発現制御機構」櫻井雅之、矢野孝紀、岡田俊平、竹内祐樹、鈴木 勉 蛋白質 核酸 酵素(共立出版)12月増刊号 2086-2091 (2009)

「核酸アナログと siRNA の配列設計」加藤敬行、宮内健常、鈴木 勉 核酸医薬の最前線、シーエムシー出版(2009)

「転写後修飾による RNA 機能制御」櫻井雅之、鈴木 勉 細胞工学(2月号)(秀潤社) Vol. 28 (No.2), 149-155 (2009)

「大腸菌からの RNA 抽出」宮内健常、鈴木 勉 RNA 実験ノート上(RNA の基本的な取り扱いから解析手法まで)(羊土社)p17-20 (2008)

「質量分析法を用いた RNA 修飾スクレオシドの解析」鈴木健夫、鈴木 勉 RNA 実験ノート上(RNA の基本的な取り扱いから解析手法まで)(羊土社) p177-181 (2008)

「有効な siRNA のデザインと細胞への導入」加藤敬行、鈴木 勉 RNA 実験ノート下(小分子 RNA の解析から RNAi への応用まで)(羊土社)p99-102 (2008)

「RNA とゲノム(最近の話題)」—座談会 機能性 RNA 研究の展望— 渡辺公綱、浅井 潔、鈴木 勉、廣瀬哲郎 ゲノム医学 Vol.7(No.2) p79-84 (2007)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計2件)

名称: RNA 中のイノシン化部位の検出方法

発明者: 鈴木 勉、櫻井雅之

権利者: 東京大学

種類: 特許

番号: 特願 2005-229335, PCT/JP2006/315581

出願年月日: 平成 17 年 8 月 8 日

国内外の別: 国内および国外

名称：往復循環クロマトグラフィーを用いた生体  
高分子の単離方法

発明者：鈴木 勉、宮内健常

権利者：東京大学

種類：特許

番号：特願 2005-224992, PCT/JP2006/315271

出願年月日：平成 17 年 8 月 3 日

国内外の別：国内および国外

○取得状況（計 1 件）

名称：イソロイシン tRNA(tRNAIle)のライシジン  
合成酵素(TiIS)としての mesJ 遺伝子産物及びその  
相同性遺伝子(COG0037)

発明者：鈴木 勉

権利者：東京大学

種類：特許

番号：特願 2003-329762

取得年月日：平成 22 年 4 月 9 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

siExplorer: effective siRNA design algorithm.

<http://ma.chem.t.u-tokyo.ac.jp/cgi/siexplorer.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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