

2024 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2023 年度採択研究代表者

八代 悠歌

東京大学 大学院新領域創成科学研究科
特任助教

RNA 修飾酵素によるマイクロ RNA 発現制御の分子基盤解明

研究成果の概要

近年の研究により、RNA に化学修飾を導入する RNA 修飾酵素が様々な機能を持ち、細胞の機能発現において重要な役割を担うことが明らかにされてきた。本研究では、miRNA の成熟過程における RNA 修飾酵素の機能に着目し、構造生物学および生化学の手法を用いて、RNA 修飾酵素の基質認識や作用における分子基盤の解明を目指した。

本年度は、前年度に続き、構造解析に向けた試料調製、相互作用解析、酵素活性の測定を実施した。しかし、精製したリコンビナントタンパク質を用いた系では、miRNA のプロセッシング酵素と RNA 修飾酵素との間の相互作用を観察できず、また構造解析の過程で技術的困難があり、当初の研究計画においては十分な進捗を得るに至らなかった。

そこであらたに U6 snRNA を標的とするメチル基転移酵素である THUMPDP2 を研究の対象として加え、その基質認識と反応機構解明を目的とし、生化学実験および構造解析に取り組んだ。マウス由来の THUMPDP2 とその補助因子である TRMT112 とのヘテロ二量体の精製に成功し、精製した THUMPDP2-TRMT112 リコンビナントタンパク質の U6 snRNA に対するメチル化反応活性を確認した。さらに構造解析に向け、部分的に切断した THUMPDP2 タンパク質のコンストラクトを複数検討し、一部の領域を欠損した THUMPDP2 についてもメチル化反応活性を確認した。同時に、U6 snRNA の一部の領域のみを合成し、THUMPDP2-TRMT112 によるメチル化反応活性を解析し、構造解析のための RNA 配列の検討を行うとともに、U6 snRNA と THUMPDP2 のおおまかな結合様式の推察を進めた。精製したタンパク質および RNA を使用して、クライオ電子顕微鏡観察のための凍結グリッドの作成条件の検討を進めた。また並行して、X 線結晶構造解析のための結晶化スクリーニングを行い、THUMPDP2-TRMT112 ヘテロ二量体の単独での結晶化に成功した。X 線回折実験を行った結果、3.0 Å の分解能で立体構造の決定に成功し、NFLDドメインと THUMPドメインから構成される RNA 結合ドメインとロスマンフォールド型触媒ドメインからなる THUMPDP2 の立体構造が明らかになった。