

***Thermus thermophilus* における tRNA 3次元コア修飾ヌクレオシドの重要性**

○富川千恵¹、金井 保²、横川隆志³、堀 弘幸^{1,4,5}

(¹愛媛大・院理工・物質生命工学、²京大・院工・生物化学、³岐阜大・工・生命工学、⁴愛媛大・ベンチャービジネス・ラボラトリー、⁵理研播磨・SPRING-8)

The importance of a modified nucleoside m⁷G46 in 3D-core of tRNA in *Thermus thermophilus*

○Chie Tomikawa¹, Tamotsu Kanai², Takashi Yokogawa³, Hiroyuki Hori^{1,4,5}

(¹Grad. Sch. of Sci. and Eng., Ehime Univ., ²Grad. Sch. of Eng., Kyoto Univ. ³Fac. of Eng., Gifu Univ., ⁴Venture Business Lab., Ehime Univ., ⁵RIKEN Harima, SPRING-8)

修飾ヌクレオシド m⁷G は、mRNA, rRNA, tRNA, snRNA など、多くの RNA 分子種に存在する。このうち、tRNA の 3D コアに存在する 46 位の m⁷G は、tRNA (m⁷G46) methyltransferase (TrmB) の触媒作用によって S-adenosyl-L-methionine のメチル基がグアニンの 7 位窒素原子に転移されることにより生合成される。tRNA の m⁷G は、真核生物、真正細菌、古細菌に共通してみついている数少ない修飾ヌクレオシドの一つであるが、当修飾の生理的機能について明らかにされていることは非常に少ない。そこで我々は、高度好熱性真正細菌 *Thermus thermophilus* をモデル生物とし、m⁷G46 の存在意義を明らかにすることを目指した。

trmB 遺伝子破壊を作成し生育を観察したところ、50~75°C 付近では野生株と同様な生育であるが、80°C での生育が非常に悪かったため、野生株、破壊株の tRNA の分析に着手した。その結果、破壊株 tRNA は、m⁷G の欠失だけでなく、m¹A58, Gm18 といった他修飾ヌクレオシドの存在量の減少がみられた。このことから、m⁷G、もしくは TrmB の有無は、他 tRNA 修飾酵素活性を左右することが分かった。さらに、80°C での *trmB* 遺伝子破壊株の生育遅滞はどこに起因するのか調査するために、アミノアシル化効率、タンパク質合成量、tRNA 存在量等に着目し分析を行った結果、次のようなことを明らかにすることができた。

- (1) m⁷G の欠失により他修飾酵素活性に影響を及ぼし tRNA 修飾が不足する。
- (2) 修飾が不足すると tRNA 融点が低下する。
- (3) tRNA 融点が低下すると tRNA 分解が起き細胞内の tRNA 割合が変動する。
- (4) tRNA 種によっては不足するのでタンパク質合成量が低下し生育遅滞が起きる。

Tomikawa *et al.* "N7-Methylguanine at position 46 (m⁷G46) in tRNA from *Thermus thermophilus* is required for cell viability at high temperatures through a tRNA modification network." *Nucleic Acids Res.* **38**, 942-57 (2010)