

生育環境変化による tRNA 修飾酵素生産量の変動
Quantity changes of tRNA modification enzymes according to
growth environments

○岩下知香子¹, 堀弘幸^{1,2}

Chikako Iwashita¹, Hiroyuki Hori^{1,2}

(¹ 愛媛大学大学院理工学研究科 物質生命工学専攻,

² 愛媛大学ベンチャービジネ斯拉ボラトリー)

(¹ Graduate School of Science and Engineering, Department of Materials Science and
Biotechnology, Ehime University and ² Venture Business Laboratory, Ehime University)

e-mail: s843005a@mails.cc.ehime-u.ac.jp

細胞内で生じた tRNA 前駆体は、転写後プロセッシングを経て成熟 tRNA になる。その中で、特定部位が修飾を受ける過程があり、作用する修飾酵素には、TrmH、TruB、TrmI、TrmFO などが存在する。塩基やリボースのメチル化や、シュードウリジル化は tRNA の立体構造の安定化に寄与し、生命活動を維持するにあたって重要である。本研究室で研究が進んでいる TrmH は tRNA の 18 位の G のリボースをメチル化 (Gm18) する酵素であり、このときメチル基供与体として S-adenosyl-L-methionine が使われる。本酵素は結晶化され構造解析がなされたが、TrmH による修飾の機能は未だ不明である。

これらの tRNA 修飾酵素は、細胞内でどのぐらいの量が生産されるのだろうか。また、細胞の生育フェーズや RNA 転写量、生育環境に応じて、どのように変化するのだろうか。これらを調べることで、修飾酵素の必要量や、生育フェーズの意義、修飾機能の解明の手がかりにしたい。我々は、研究室内で高度好熱性真正細菌 *Thermus thermophilus* HB8 を培養し、この生物を調査対象として用いた。tRNA 修飾酵素生産量の変化は銀染色や活性測定により追跡している。現在、tRNA(Gm18)methyltransferase (TrmH) に関する分析を進めたので報告する。

T. thermophilus HB8 の生育温度 50~80℃において、52、67、77℃での温度条件下で培養し、生育フェーズの異なる箇所集菌した。TrmH 活性測定に関しては、酵母の tRNA 混合物を基質として ¹⁴C で標識された S-adenosyl-L-methionine からのメチル基転移を測定した。これにより対数増殖期において徐々に活性が下がってくる結果が得られた。また、TrmH 量に関しては、S-adenosyl-L-homocysteine 固定化カラムにより菌体から TrmH を取り出し、電気泳動後に銀染色をすることで調べた。すると TrmH のバンドの濃さは生育フェーズにより異なるという結果が得られた。これにより、生育フェーズの影響で直接 TrmH 量に変動している、あるいは、TrmH 以外のタンパク質が大量につくられていることが示唆された。また、TrmH を調べる上で *T. thermophilus* HB8 の TrmH 遺伝子の破壊株の培養も行なったところ、79、70、50℃で得られた生育曲線では、50℃の場合において、野生株との違いが見られた。このことから、TrmH による作用は低温下でより影響を及ぼすと思われる。