

提出日：平成 28 年 月 日

平成 27 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	RNA プロセッシング機構の解析		
研究代表者	氏名	根東 義則	
	所属機関名・部局名	東北大学・大学院薬学研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	国際共同研究課題	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	藤原敏道		
<p>本共同研究課題では RNA 分子のプロセッシング現象の解明をめざした。具体的には小胞体膜蛋白質 Ire1p の基質となる Hac1 mRNA が受ける細胞質スプライシングの機構について解析を行った。特に基質側の Hac1 mRNA がどのような構造をしている時に Ire1p の基質となるかについて詳しく研究を行った。その結果、切 Hac1 mRNA 断部位がヘアピン構造をとっていることが示された。これらの成果は本年以前の共同研究の成果である「RNA 分子の部位特異的標識法開発」によって、ヘアピンループ内の保存残基が塩基対を形成していることを検出できたことによる。また決定された三次元構造が、生物学的にも意義のある構造であることが細胞生物学的にも明らかとされた。</p> <p>また Hac1 mRNA 鎖切断の化学的背景（電子論的機構解析）に迫るために、Hac1 mRNA の切断部位と同様な機構で切断を受けると考えられているハンマーヘッド型リボザイムについても、反応機構解析を行った。活性残基等の pKa 測定を NMR 分光法を用いて行った。ハンマーヘッド型リボザイムでは、触媒残基 G12 と金属イオン結合残基 G10.1 が重要な役割を果たしていると考えられている。従って、ハンマーヘッド型リボザイムの滴定実験を行って、触媒残基である G12 残基の pKa の決定を試みた。滴定の終点が完全には観測されなかったものの、およその pKa 値が得られた。生体高分子の状態解析において、ピンポイントで活性残基のみに着目して解析が行えるのは NMR 分光法ならでの成果である。なおその結果、本リボザイムの活性化因子である二価金属イオンが存在しない条件下では、pKa 値が通常のグアノシンより上がっているデータが得られた。一方、二価金属イオン存在下では、pKa 値が下がることが観測された。このデータは、二価金属イオンがハンマーヘッド型リボザイムを活性化する機構として、触媒残基の酸性度を上げることが主たる役割であることを強く示唆している。これまでの機構解析では全て G12 残基が塩基であるとされてきたが、その解釈に一石を投じる結果であると考えている。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 28 年 5 月 20 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp