

日本RNA学会会報

No.3 (2000年 10月)

< 目次 >

RNAと私の縁

学習院大学 生命分子科学研究所
所長三浦 謹一郎

日本 RNA 学会 第 2 回評議員会議事録

日本 RNA 学会第 2 回総会議事録

日本 RNA 学会 1999 年度会計収支決算報告

日本 RNA 学会 2000 年度収支予算

第 2 回(2000 年)RNA ミーティング報告

(第 2 回 日本 RNA 学会年会)

第 3 回(2001 年)RNA ミーティングのお知らせ

(第 3 回 日本 RNA 学会年会)

< 寄稿 >

tmRNA に関する最近の話題

武藤 あきら(弘前大学・農学生命科学)

RNAと私の縁

学習院大学 生命分子科学研究所

所長 三浦 謹一郎

今年のリボソームの立体構造を全原子配置について明らかにするというX線解析の結果が Tom Steiz らのグループから発表されたが、これは遺伝情報の翻訳機構の研究にとっては一つのモニュメントとなる仕事であった。

私がRNAの研究を始めたのは大学院修士課程2年目の1954年からであった。大学の3年生のときには大学院に入って生物化学を勉強したいと思っていたが、新しい生命科学の動きがあって核酸や蛋白質というものを研究されている新進の渡辺格先生の研究室に志願した。研究室は東京の駒場の東大理工学研究所（のちに宇宙科学研究所）にあった。当時はリボソームという言葉もなく、細胞の中のRNAは遠心分離で分別される顆粒部分と上清部分（可溶分画）に分別されていて、可溶分画中のRNAは solubleRNAあるいはs-RNAと呼ばれていた。mRNA、tRNA、rRNAの3種のRNAが区別されたのは1960年代に入ってからであった。従ってそれからの研究の進歩が如何に早かったかがわかる。大学院の博士課程の終わり頃には核酸関係の論文抄録を作るアルバイトをしていたが、生化学関係の論文誌から核酸関係の論文は自分でほとんど拾い出して主なものについては抄録を作ることができた。しかし、今では片手間にそんなことをすることはとてもできない。

私は大学では化学科にいたので、核酸というまだ正体がかきりしていないが生物学的に注目されている物質の構造に強く関心があった。大学院で渡辺格先生の研究室ではRNAの不均一性というテーマが与えられたが、また、研究室の中での技術的分担としては塩基組成分析をきちんとできるように実験方法を確立するように言われていた。大学院の1年目に、渡辺格先生が米国出張中だから修士課程の間は蛋白質化学の安藤鋭郎先生の研究室で勉強して来いと言われ、当時助手の石井信一先生について生化学実験の手ほどきとアミノ酸の組成分析の方法を習った。修士課程2年目からは渡辺研の方で仕事をするようにということになったのだが、安藤研で習得したアミノ酸のクロマトグラフィーの方法を核酸の分析に使えるようにすることが一つのノルマであった。しかし、偶然のことであったかもしれないが、大学院の最初の1年を蛋白質化学の研究室で過ごしたことは私のその後の長い研究生活に大きな意味を持っていたように思う。

テーマの仕事に関しては、当時としてはできるだけ穏やかに細胞から取り出したRNAをイオン交換クロマトグラフィーや塩析で分別してみることを始めた。発案は助手の鈴木先生であったが、この仕事でも安藤研にいた1年間の経験は大変役に立った。遠心分離や1M NaClで塩析することによって顆粒RNA (rRNA) とs-RNA (tRNAと少量のmRNA) の分画を分けて塩基組

成分析をしたところ、はっきり違い があることが見付かった。このときs-RNAの方には通常のA、G、C、Uの他に少量のピリミジンヌクレオチドが含まれていることを見付けて力が不十分であったのでその物質を同定できなかつたが、それから程無くWaldo. E. Cohnが見付けたプソイドウリジル酸に相当することを知って悔しい思いをした 覚えがある。

博士課程に進んでからは渡辺格先生から直接指導を受けてファージ感染後に宿主大腸菌の中で微量に合成されるファージに特異的なRNA(すなわちファージ のmRNA)の動態を研究した。私はバクテリアやファージの実験方法をカリフォルニア仕込みの渡辺先生から直接教えていただくという貴重な経験を持っている。また、その頃渡辺先生は必要な技術はどんどん外へ出て行って専門家に教えてもらうことを勧めて下さったので、タバコモザイクウイルスの精製や増殖方法、ウイルス活性の測定方法などは秦野にあった専売公社のたばこ試験場で日高醇先生の研究室で比留木忠治さん(のちにカナダのエドモントン大学教授)に教 えてもらい、共同研究もした。

大学院を了えて自分で研究テーマを選ぶようになってからはまずs-RNAが大部分アミノ酸転移RNAと呼ばれるものであって分子量も小さいので構造と機能の関係を調べるということを中心テーマとすることにした。しばらくして核酸、といってもRNAの日本における研究のメッカであった名古屋大学理学部分子生物学研究施設に行くことになった。

tRNAの塩基配列決定を目指していた竹村彰祐さんの研究室で一緒になって仕事を始めたが、私の方はどちらかというとtRNAの機能の方の仕事を受け持ち、アミノ酸識別機構を研究した。tRNAの塩基配列は酵母のアラニンtRNAについてコーネル大学のHolleyが一番乗りをし、ミュンヘンのZachauがラットのセリンtRNAでこれに続き、それに次いで竹村グループが酵母のバリンtRNAについて決め、だんだん生物材料の異なる色々な種類のtRNAの塩基配列が決定された。tRNAは蛋白質合成で核酸語を蛋白語に翻訳する中心的役割を果たす小さい乍ら有能な分子であるということで、私はRNAにのめり込んでしまった。tRNAがアミノアシルtRNA合成酵素(ARS)とアミノ酸の種類を見分けることにはアンチコドンが関与していると思われるデータがいろいろ出てきて興奮していた。90年代になってtRNAとARSの複合体の構造解析が進んで、多くの場合にtRNAのアンチコドンと3'末端付近はARSと直接相互作用しており、tRNAのアミノ酸識別には多くの場合にアンチコドンも関与しているという結果が報告されるようになり、我々が立てた仮説がかなりの場合に実際と合致しているようである。名古屋にいるときには均一なRNA成分を含むウイルスRNAの構造を調べることもやってみたい と思っていた。イネ萎縮病ウイルスとカイコ細胞質多角体病ウイルスの2種について精製して分析を行ったところ、いずれも二本鎖RNAを遺伝子として持っているが、それぞれ12個または10個のRNA断片に分かれており、ゲル電気泳動で断片同士を分離させ、サイズを決めることができた。

1970年からは静岡県三島にある遺伝研に創設された分子遺伝部で仕事をするようになった。ここでは遺伝子の構造研究をやろうとしたが、小さな遺伝子(ゲノム)から取り組むべきだと考えてウイルスを材料にすることにした。当時長いDNAの塩基配列を決める方法はまだなくて、これはかなり先のことになり そうだが、RNAならばやり方次第ではかなりの長さの塩基配列を調

べることが可能であった。上に述べたように名古屋大学にいたとき二本鎖RNA遺伝子を含むウイルスのRNAは一つのウイルスの中で10個ほどのシストロン・サイズの断片に分かれていることがわかっていたのでこれなら遺伝子の情報発現やその調節機構を調べるのに格好な材料であろうと思って二本鎖RNA遺伝子を持つウイルスを研究材料にすることにした。当時はまだDNAをシストロン部分で切断して取り出すことなどできていなかったから、このウイルスの二本鎖RNAの断片はまさに天から与えられた材料ではないかと思った。構造研究のためには研究材料はできるだけ量的に多量に得られることが必要だったからカイコの細胞質多角体病ウイルス(CPV)を主に用いて研究を展開した。

研究の最初の目標はCPVの二本鎖RNAの各断片とそれぞれの転写産物の末端付近の塩基配列を調べて情報を持っている鎖の特徴を明らかにすることであった。こうしてメッセンジャーRNAと二本鎖RNAの情報鎖(+鎖)の5'末端がブロックされた構造であることを発見することができた。これがmRNAのキャップ構造の発見である。その研究経過は詳しくは *Advances in Biophysics* Vol. 14 (1981) に書いたが、岩波新書の「DNAと遺伝情報」にもあらましを書いた。

このようにして、私は魅惑的なRNAというものから離れることができなくなってしまった。最近では私の仕事の重点が蛋白質やDNAの方に移っているが、RNAからも離れることはできないでいる。RNA研究が新しい局面を迎えている今、RNA研究者の集まりができて嬉しく思っている。皆さんの御活躍を期待したい。

(2000年10月)

◆日本 RNA 学会 第2回 評議員会議事録

日時：平成12年7月31日(月)12時から13時

場所：品川プリンスホテル・新館 38F 個室「平塚」

出席者：会長志村令郎

評議員 井上丹、太田成男、坂本博、谷時雄、中村義一(集会幹事)、野本明男、
武藤あきら、渡辺公綱(会長補佐)

幹事饗場弘二(編集)、内海利男(会計)、多比良和誠(集会)、井上邦夫(庶務)

1. 志村会長が挨拶を行った。
2. 井上庶務幹事より、正会員、賛助会員の状況が報告された。
3. 饗場編集幹事より、会報第1号が平成11年10月、第2号が平成12年5月に発行されたことが報告された。
4. 谷評議員より、学会ホームページが平成11年10月に開設され、これまでに7千数百件のアクセスがあったことが報告された。
5. 内海会計幹事より、平成11年度の会計収支決算報告が行われた。すでに会計監査により適正な予算執行と認められたことが確認され、収支決算報告を承認した。続いて平成12年度の会計収支予算案が提出され、これを承認した。
6. 今後の財政基盤強化のために会費値上げ等を行うべきか議論し、平成12年度には会費値上げを行わないこと、今後必要に応じて評議員会で検討することとなった。
7. 第2回年会世話人の中村評議員・集会幹事より、年会準備が順調に進んでおり、事前参加申し込み186名と発

表申し込み100件を受け付けたことなどが紹介された。

8. 第2回総会の議長・副議長として正木春彦氏、阿形清和氏を指名することとなった。また、総会成立には正会員の半数にあたる125名以上の出席(委任状を含む)が必要なことが確認された。

9. 第3回年会は坂本評議員、第4回年会は多比良集会幹事が世話人を行うこととなった。坂本評議員から、平成13年8月1日(水)～3日(金)に神戸大学学術交流会館を主会場として開催準備を進める予定であることが報告された。

10. 志村会長より、RNA Society の Abelson 会長に日本での国際 RNA ミーティング開催を打診し、2005 年以降に開催可能との回答を得たことが報告された。

(庶務 井上邦夫)

◆日本 RNA 学会 第2回 総会報告

日時：平成12年8月1日(火)16:15 - 17:00

場所：品川プリンスホテル・32階「函館」

1. 志村会長が開会挨拶を行った。
2. 総会議長に正木春彦氏、副議長に阿形清和氏を選出した。
3. 議長より、43通の委任状を含めて160名の会員が総会に参加しており、総会が成立していることが報告された。
4. 井上庶務幹事より活動報告が行われた。
 - (1) 平成12年7月現在、正会員数が250名、賛助会員が11社に及んでいる。
 - (2) 年2回の会報発行と学会ホームページによる広報活動を行っている。
 - (3) 第3回年会世話人に坂本博評議員、第4回年会世話人に多比良和誠集会幹事を予定している。
5. 内海会計幹事より、平成11年度会計収支決算書が提出・説明され、異議なく承認された。また、同幹事より平成12年度収支予算案が提案・説明され、異議なく承認された。
6. 中村義一第2回年会世話人の挨拶があり、多数の参加・発表者を得て年会在順調に運営されている旨の説明があった。
7. 坂本第3回年会世話人の挨拶があり、平成13年8月1日(水)～3日(金)まで神戸大学学術交流会館を主会場として準備を進める予定であることが紹介された。
8. 正木議長により閉会挨拶があり、総会が終了した。

(庶務 井上邦夫)

◆1999 年度会計収支決算報告

1999 年度(1999 年 10 月 1 日～2000 年 3 月 31 日)の学会会計収支決算は以下のようになりましてのご報告致します。(会計幹事 内海利男)

収入の部

科目	決算額	備考
学会費 666,000	666,000	一般会員会費 450,000 円 (5000 円 x 90 名) 学生会員会費 84,000 円 (2000 円 x 42 名)
賛助会費	210,000	入会金 132,000 円
預金利子	7	
雑収入	0	
合計	876,007	

支出の部

科目	決算額	備考
事業費	102,075	No. 1
会報発行	53,075	
年会補助金	0	
ホームページ関連費	49,000	
その他	0	
業務委託費	343,581	(財)日本学会事務センター
一般事務費	84,740	
印刷費	720	コピー代等 会報・請求書発送費等 事務封筒等 会長印・学会印 35,500 円、その他払い込み手数
通信費	41,485	
庶務事務費	5,250	
雑費	37,285	
支出小計	530,396	

次年度繰越金	345,611	料
合計	876,007	

1999 年度会計監査報告 平成 11 年度収支計算書について関係書類とともにその内容を慎重に
監査した
結果、正当であることを認めます。

日本 RNA 学会会計監査委員

水本清久 印

西川一八 印

◆2000 年度会計収支予算

(2000 年 4 月 1 日 ~ 2001 年 3 月 31 日)

収入の部

科目	2000 年度予算案	備考
学会費 666,000	683,000	一般会員会費 544,500 円(5,000 円 x 121 名 x 0.9)学生会員会費 138,600 円(2,000 円 x 77 名 x 0.9)(30,000 円 x 28 口 x 0.9)
賛助会費	756,000	
預金利子	20	
雑収入	0	
収入小計	1,439,020	
前年度繰越金	345,611	
合計	1,784,631	

支出の部

科目	決算額	備考
事業費		年 2 回 (No.2, No.3)
会報発行	550,000	
年会補助金	150,000	
ホームページ関連費	300,000	
その他	100,000	
	0	
評議員会	306,000	(財)日本学会事務センター
旅費・会議費	296,000	
その他	10,000	
業務委託費	409,000	
一般事務費	200,000	
印刷費	30,000	委任状等印刷・コピー代等
通信費	120,000	会報・請求書・委任状発送費等

庶務事務費	30,000	
雑費	20,000	
予備費	100,000	
支出小計	1,565,000	
次年度繰越金	219,631	
合計	1,784,631	

(会計幹事 内海利男)

◆第2回(2000年)RNAミーティングの報告
(第2回日本RNA学会年会)

第2回年会は、7月31日(月)から8月2日(水)の3日間、品川プリンスホテルで開催されました。今年度のRNAミーティングは、特定領域研究「RNA 動的機能の分子基盤」の公開合同班会議(7月30~31日)に引き続いて同じ会場で開催しました。合計105件の発表演題の申込があり、口頭発表 とポスター発表を半々にして、4日間を通して1会場での口頭発表、ならびに会期中を通したポスター展示と3回のポスターセッションを行い、時間的、空間的 にもスムーズに会を進行できたように思います。年会への参加人数は、一般135、学生119、合計254名となり、第2回にして安定したサイズの年会の開催を今後も見込めるようになったと言えます。

1会場での口頭発表は、特に若い学生の方々には、エンカレッジな経験でもあり、今後も継続して欲しいと思います。懇親会も盛況で、主催者としては(最高でも)160名程度と考えていましたが、予想に反し、ほぼすべての240名の方にお集り頂きました。うれしい誤算で、学生諸君が「全員」参加する懇親会を、今後ともRNAミーティングの伝統として続けて欲しいところです。

最後に、会期中、すべての口頭発表に熱心に耳を傾けて頂いた志村会長はじめ、学会員各位、ならびに会の運営をサポート頂いた東さんと我々の研究室のメンバー、及び開催に際し経済的な支援を賜ったRNA 特定研究の領域代表・渡辺先生に、この場をかりてお礼を申し上げます。

第2回 RNA ミーティング世話人代表
中村義一(東京大学医科学研究所)

◆第3回 RNA ミーティングのお知らせ

来年度の日本 RNA 学会年会(第3回 RNA ミーティング)は、2001年8月1日(水)～8月3日(金)の期間、神戸大学キャンパス内に現在建設中の神大 会館をメイン会場(口頭発表及び懇親会)に、また隣接する滝川記念学術交流会館をポスター会場として開催する予定です。学会終了後は週末なので神戸エリア を存分に楽しむこともできます。多数の皆様が参加して下さい、活気あふれたミーティングになるように世話人として精一杯頑張りますので、どうかよろしくお 願いします。なお、詳しい年会案内は来年2月ぐらいに RNA 学会のホームページ (<http://molgen.biology.kyushu-u.ac.jp/usr/RNA/>)に掲載する予定です。

第3回年会世話人

神戸大学理学部 坂本博

(hsaka@kobe-u.ac.jp)

tmRNA に関する最近の話題
武藤あきら(弘前大学・農学生命科学部)

tmRNA や trans-translation という言葉が提唱されて 5 年近くになるが、新しい教科書「ゲノム」にもはじめて登場したりして、最近 は かなりポピュラーになってきたことは我々以前から研究しているものにとって嬉しいことである。Trans-translation モデルがあまりにもきれいで分かりやすいことから、この機構が一般にはもう解明されたものとして受け取られがちだが、実際にはまだ不確かなことの方が多いのが現状である。それでもここ 1~2 年、かなりの研究グループが参入してきて、新たな展開がみられた。いくつかのトピックスを紹介しよう。

* SmpB の発見: trans-translation に関与する因子の存在は予想されていたことだが、昨年 MIT の Sauer のグループからそのひとつとして SmpB が報告された(Karzai et al., EMBO J. 18:3793-3798 (1999))。すべての真正細菌に存在する分子量 2 万程度の小型塩基性タンパク質で、遺伝子 smpB は大腸菌、枯草菌などでは ssrA (tmRNA 遺伝子)の 5' 側に隣接している。正確な機能は不明だが欠失株では tmRNA がリボソームと結合できない。別の因子を探して複数のグループが tmRNA に特異的に結合する他のタンパク質の単離を試みている。役者はまだ出揃っていないのだ。

* 二つの断片からなる tmRNA: インディアナ大学の Williams のグループはクーロバクターの tmRNA は二つの断片から成ることを見つけた (Keiler et al., PNAS 97:7778-7783(2000))。遺伝子上では同一オペロン内に 3' 側断片が上流(5' 側)で 5' 側断片が下流(3' 側)に介在配列を挟んで位置し、転写後に介在配列が切り出されて二つの断片が塩基対を介してひとつの tmRNA に組み上がる。全ゲノム配列が決まったが tmRNA 遺伝子が見つからなかったリケッチャに同様な遺伝子構造があることもわかり、調べられた限りすべての真正細菌に存在することが確かとなった。

* 標的タンパク質: trans-translation は翻訳に失敗したペプチドの分解という一般的な役割のほかに、特定の標的タンパク質の分解という機能もあるらしい。名古屋大学の饗場弘二のグループは大腸菌の Lac repressor (LacI) が標的となることを報告した(Abo et al., EMBO J., 19:3762-3769 (2000))。タンパクの分解による新しい遺伝子発現調節の機構として注目される。これを契機に他の標的タンパク質の検索が進むにちがいない。

* 生理的役割: 大腸菌や枯草菌の tmRNA は通常の増殖に必須ではないが、淋病菌(*Nisseria gonorrhoeae*)では必須であることが分かった(Huang et al., EMBO J., 19:1098-1107 (2000))。間接的証拠ではあるがシアノバクテリアとマイコプラズマでも tmRNA は必須であるという報告がある。我々は枯草菌の tmRNA 遺伝子はストレス応答型で、高温などの強いストレス下で転写は数倍~10倍増加すること、また強いストレス下の増殖に必須であること示した(Muto et al., Genes to Cells, 5:627-636 (2000))。その他 tmRNA がファージの増殖やサルモネラの病原性にも関与しているという報告もあり、tmRNA または trans-translation が細菌に多面的な作用をもつこ

とは明らかである。

* 機能構造: 大腸菌 tmRNA は 363 塩基の長さで、少なくとも4個のシュードノット、6個のヘリックス構造をもつ。我々のグループでは数百の変異体 tmRNA と in vitro の trans-translation 系を用いた解析から、tRNA と mRNA としての機能に必要な配列、構造の特定を行ってきた (Nameki et al., J. Mol. Biol.286: 733-744 (1999); Nucleic Acids Res., 27: 3667-3675 (1999); FEBS Lett., 470: 345-349 (2000)など)。シュードノットのひとつの重要性が明らかになったし、たった1塩基の変化でリボソームと結合できない変異や mRNA の切り替えが起きないものなどもみつき、それらの総合から機能構造の全体像が明らかになってきた。

世は構造生物学の時代である。最近のリボソームの X-線結晶解析の成果はその威力をまざまざと我々に見せつけた。tmRNA や tmRNA と EF-Tu などとの complex の結晶化の試みは既にいくつかのグループで始まっている。日本でも千葉工大、東大、弘前大、理研のグループを中心に好熱菌を使った構造解析のプロジェクトがスタートし、この10月に弘前でミーティングが開かれた。最終ゴールはリボソーム上での trans-translation complex の構造解析で、それによりこの反応の分子機構の詳細が明らかになるであろう。その日の来るのが楽しみである。