

tRNA シュードウリジン 55 合成酵素 TruB 遺伝子破壊株及び
変異株の生育について

○石田一雄¹, 富川千恵¹, 岩下知香子¹, 堀弘幸^{1,2,3}

(¹愛媛大学・院理工, ²愛媛大学ベンチャービジネスラボラトリー,
³理研・播磨 Spring-8)

○Kazuo Ishida¹, Chie Tomikawa¹, Chikako Iwashita¹, Hiroyuki Hori^{1,2,3}

(¹ Grad. Sch. of Materials Sci. and Biotechnology, Ehime Univ., ²VBL, Ehime Univ.,
³Riken・Harima Spring-8)

シュードウリジンは真正細菌、古細菌、真核生物の rRNA, snRNA, tRNA など様々な RNA 分子種に共通して発見される修飾ヌクレオシドである。真正細菌において tRNA 中のシュードウリジン 55 は TruB の作用によって合成される。この修飾は tRNA の成熟過程において初期段階に起こると考えられており、他の修飾酵素の認識にも必要であるかもしれない。そこで、TruB が欠失したとすると *T. thermophilus* の生育にどのように影響が出るのかを調べる事にした。

まず、*T. thermophilus* の *truB* 遺伝子破壊株を作製した。野生株及び *truB* 遺伝子破壊株を 50℃の高栄養液体培地で培養した結果、圧倒的に *truB* 遺伝子破壊株の方が生育が悪かった。また、*truB* 遺伝子破壊株を plate 上で 60℃、70℃で培養したところ、同様な結果が得られた。これらの結果より TruB が *T. thermophilus* の生育にとって重要な酵素であることが分かった。

それでは、TruB の欠損はどのようなメカニズムで *T. thermophilus* の生育を悪化させるのであろうか？大腸菌の場合、TruB は tRNA 修飾酵素としてのみならず、tRNA の構造を維持する RNA シャペロンとして機能することが報告されている。RNA シャペロン活性にはシュードウリジン合成酵素活性は必要でない。もし、*T. thermophilus* 細胞内でも同様の事が起こっているとすると、シュードウリジン合成酵素活性を欠いた TruB を発現させれば生育は回復するはずである。逆に、シュードウリジン合成酵素活性が必須であるならば、活性低下させた TruB を発現させれば、生育は部分的に回復するはずである。

そこで、活性を持たない、もしくは活性低下した TruB をコードする遺伝子を作製する事にした。Gutsell.N.らの報告より大腸菌由来の *truB* 遺伝子の活性中心 Asp48 を Ala に置換した場合、活性が 0 に、Cys に置換した場合活性が 1/100

になる事が分かっている。*T. thermophilus* では活性中心は Asp37 にあたると予測し、Asp37 を Ala と Cys に置換した。これらのタンパク質をそれぞれ精製し、2次元薄層クロマトグラフィーによって活性を確認し、活性を持たない、もしくは活性低下した TruB が *T. thermophilus* 細胞内で発現するような plasmid を構築した。この要因から生育フェーズがどのような挙動を示すか報告する予定である。