

Thermus thermophilus tRNA (m¹A58) methyltransferase [TrmI] の基質認識機構

Substrate recognition mechanism of *Thermus thermophilus* tRNA (m¹A58)
methyltransferase [TrmI]

美濃地 真之¹, 牛尾 なつみ¹, 堀 弘幸^{1, 2}

Masayuki Minoji¹, Natsumi Ushio¹, Hiroyuki Hori^{1, 2}

(¹愛媛大学・院理工・物質生命工学,²愛媛大学VBL)

(¹Dept. of Materials Sci. and Biotechnol., Grad. Sch. of Sci. and Eng., Ehime Univ.

²VBL, Ehime Univ.)

e-mail: daphchlo@hotmail.com

RNA分子中には基本となる四塩基A、U、G、Cがあるが、その他に様々な修飾塩基がある。その中で数多くの修飾塩基がtRNA中で発見されている。tRNAはその独自の構造を修飾塩基によって安定化し、また、外界の環境の変化に対応していると考えられている。本菌のtRNAでは、58位のアデニン (A58) は、tRNA (m¹A58) methyltransferase [TrmI] により 1-メチルアデニン (m¹A58) へとメチル化される。2004年、本菌の *trmI* 遺伝子破壊株が 80°C では生育できないことを、欧州のグループが報告した。TrmI および m¹A58 の修飾の、高温環境下での機能を明らかにすることを目的とした。

まずTrmIの基本的な性質から調べることにした。大腸菌内でTrmIを大量発現させて、陰イオン交換と陽イオン交換による2種類のカラムクロマトグラフィーにより精製した。そして、生体内から取り出したtRNA混合物や、tRNA転写産物など、種々のtRNAを基質として用い、それぞれTrmIによるメチル化効率を調べた。生体内から取り出したtRNA混合物と比較しtRNA転写産物では修飾効率が非常に低かった。このことから生体内から取り出したtRNAには様々な修飾が入っており、TrmIの修飾には他の修飾塩基が必要なのではないかと示唆される。そこで、tRNA上の如何なる部分の修飾がTrmIの基質認識に寄与しているかということ調べることにした。また、それとは別にtRNA転写産物のメチル化効率は概ね低い、*T. thermophilus* tRNA^{Phe}転写産物のメチル化効率は他のtRNA転写産物に比べて高かった。未修飾な転写産物であるにも拘らず反応効率が高いものがあるということはtRNA上の塩基配列を部位特異的に認識しているのではないかと考えられる。これらのことにより、TrmIはtRNA修飾とtRNA上の塩基配列の両方を認識していると仮定し、メチル化効率の大きな引き金となる要因を双方の観点から、詳細を調べているので併せて報告する予定である。