

*Thermus thermophilus* の tRNA 修飾酵素遺伝子破壊株の解析  
-tRNA m<sup>7</sup>G46 メチル化酵素はネットワークの鍵酵素の一つである-

Research of gene disrupted mutants of tRNA modification enzymes from *Thermus thermophilus*  
-Transfer RNA (m<sup>7</sup>G46) methyltransferase is a key enzyme in the tRNA modification network-

富川 千恵<sup>1</sup>、横川 隆志<sup>2</sup>、金井 保<sup>3</sup>、○堀 弘幸<sup>1,4,5</sup>

Chie Tomikawa<sup>1</sup>, Takashi Yokogawa<sup>2</sup>, Tamotsu Kanai<sup>3</sup>, and ○Hiroyuki Hori<sup>1,4,5</sup>

(1 愛媛大・院理工、2 岐阜大・工、3 京都大・院工、4 愛媛大・ベンチャービジネス  
ラボラトリー、5 理研・播磨・SPRING-8)

(1 Grad. of Sch. of Sci. and Eng., Ehime Univ., 2 Fac. of Eng., Gifu Univ., 3 Grad. of Eng.,  
Kyoto Univ., 4 Riken, Harima Inst., SPRING-8)

E-mail: [hori@eng.ehime-u.ac.jp](mailto:hori@eng.ehime-u.ac.jp)

RNA には様々な修飾ヌクレオシドが見出されるが、その約 8 割は tRNA 中に存在する。我々は、これら修飾の意義を解明すべく、*Thermus thermophilus* HB8 をモデル生物として、RNA 修飾酵素の遺伝子破壊株の解析を進めてきた。今回は、tRNA のバリアブル領域の準保存塩基グアニン 46 (G46) を N<sup>7</sup>-メチルグアニン 46 (m<sup>7</sup>G46) に修飾する tRNA (m<sup>7</sup>G46) methyltransferase (TrmB) の遺伝子破壊株を中心に報告する。m<sup>7</sup>G46 は、真正細菌および真核生物の tRNA に見られる普遍的な修飾の一つである。しかしながら、その機能は未解明の問題として残っていた。

我々は *T. thermophilus* の *trmB* 遺伝子領域を耐熱性カナマイシン遺伝子で置換した遺伝子破壊株を作成した。この破壊株細胞抽出液中に TrmB 活性がないこと、class I tRNA 中の m<sup>7</sup>G が消失していること、精製 tRNA<sup>Phe</sup> の G46 が未修飾であることを確認した。遺伝子破壊株は、70°C 以下では野生株と遜色なく生育するが、それ以上の温度領域では顕著な生育遅滞を示し、特に 80°C では、しばしば培養途上で溶菌し、対数増殖期に達することがなかった。<sup>35</sup>S-メチオニンのタンパク質への取り込みによりタンパク質合成活性を調べたところ、遺伝子破壊株ではタンパク質合成量が著しく減少していることが判った。また、tRNA の修飾を調べたところ、m<sup>7</sup>G のみならず、Gm, Ψ, m<sup>1</sup>G, m<sup>2</sup>G など様々な修飾ヌクレオシドの含量が低下していることが判った。そこで、遺伝子破壊株から tRNA を調製し、TrmB により、m<sup>7</sup>G46 の修飾を導入したところ、入れない場合より、TrmH, TrmD, TrmI など様々な tRNA 修飾酵素が認識しやすくなっていることが判った。また、Northern hybridization により tRNA の存在量を調べたところ、高温環境下 (80°C) では、遺伝子破壊株中の tRNA<sup>Phe</sup> や tRNA<sup>Ile</sup> が分解されることが示された。これらの実験結果は、TrmB による m<sup>7</sup>G46 の修飾は、tRNA 修飾ネットワークの鍵として機能し、tRNA を安定化する機能をもつことを示唆している。