

事後評価報告書（日英研究交流）

1. 研究課題名：生体制御を担う mRNA の転写後修飾に関わる生体高分子複合体の構造生物学的研究

2. 研究代表者名：

2-1. 日本側研究代表者：武藤 裕

(理化学研究所 RNA 生物学研究チーム チームリーダー)

2-2. 英国側研究代表者：Carol Robinson

(Professor, Department of Chemistry, University of Cambridge)

総合評価：「優」

3. 研究交流実施内容及び成果：

本研究交流では、オールタナティブスプライシングなどの mRNA の転写後修飾に関連する因子や複合体について、それらの立体構造・構築や構造変化の解析を行うことを目的とする。具体的には、日本側は核磁気共鳴装置や X 線結晶解析により立体構造解析を進め、英国側はエレクトロスプレーイオン化質量分析装置によって複合体構造・構築の解析を進める。両国の研究チームが相互補完的に取り組むことにより、mRNA の転写後修飾のメカニズムの解明を目指す。

研究成果としては以下のとおり。

(1) 日本側の研究成果

①AUH タンパク質の RNA 認識に伴う 4 次構造変化

a. AUH タンパク質が mRNA と結合した時にどのように分子形態を変化させるのかを検討するため、AUH タンパク質のみ、および、RNA 分子存在下での AUH 複合体を作製した。これらの分子形態について、日本側の X 線結晶解析情報と英国側のエレクトロスプレーイオン化質量分析装置で解析した結果をあわせて検討した。その結果、AUH タンパク質は水溶液中で、RNA フリーの状態で 3 量体を形成し、RNA と結合すると 6 量体を形成することがわかった。

b. この成果は、英国側と共著論文として報告するに至っている。

②U1snRNP の細胞内での分子構造の多様性について

a. U1snRNP の分子形態を検討するため、再構成した U1snRNP ならびに HeLa 細胞から単離した U1snRNP を調製した。英国側のエレクトロスプレーイオン化質量分析装置で解析し

た結果、U1snRNP の構成成分である U170K タンパク質と smB タンパク質には、それぞれ 4 種類のスプライシングバリエーションが存在することがわかった。

b. この成果は、英国側と共著論文として報告するに至っている。

③LUCA ならびに TIA1 タンパク質の構造解析

RNA フリーの状態における LUCA ならびに TIA1 タンパク質について、その RNA 結合ドメインの構造決定に成功した。

(2) 英国側の研究成果

①AUH タンパク質の RNA 認識に伴う 4 次構造変化

日本側で作製された AUH タンパク質ならびに RNA 分子との複合体を用い、エレクトロスプレーイオン化質量分析装置で解析した。AUH タンパク質は、RNA と結合することにより 3 量体から 6 量体へその 4 次構造を変化させることを見いだすことに成功し、共著論文として報告するに至っている。

②U1snRNP の細胞内での分子構造の多様性について

U1snRNP の構成成分である U170K タンパク質と smB タンパク質をエレクトロスプレーイオン化質量分析装置で解析し、それぞれ 4 種類のスプライシングバリエーションが存在することを明らかにし、日本側と共著論文として報告するに至っている。

研究成果の今後期待される効果

・科学技術進展の面から

X 線結晶解析や NMR 法で得られてきた構造情報をもとに、エレクトロスプレーイオン化質量分析技術を用いてネイティブな状態の生体分子複合体を解析する方法は、生体分子が実際に機能する状態を捉える手法となりえる。したがって、これらの手法を組み合わせることにより、タンパク質の構造情報を実際の生体反応の解釈に利用できると日本側研究グループは考えている。

4. 事後評価結果

4-1. 総合評価

日本側代表者らが得意とする mRNA 翻訳後修飾に関連するタンパク質の構造学的解析と、英国側が得意とするネイティブなタンパク質・mRNA 複合体の ESI 質量分析という研究交流により、mRNA 翻訳後修飾に関するメカニズムの解明がある程度進められたと考えられる。実際、ESI 質量分析の技法が加わると、AUH タンパク質における多量体の構造(四次構造)の決定や、スプライスバリエーションの同定など、さまざまな生物学的発見に結びつく点が興味深い。すでに本事業の前に HFSP で共同していた相手であり、比較的短期間の当事業の中で明確な共著論文が 2 報、またその他の論文も出ていることは評価できる。

いっぽう、人材の交流機会については計画どおりには進んでおらず、日本側からの来訪が 0

回、英国側からの来訪も NMR 構造生物学会による招聘の折に理研に訪問してもらったものであり、本事業中での交流は少なかった。ただし HFSP で既に関係が出来ていたためにこれらが必要なかったという理由もあろう。

全般的に見て、当事業の目的に照らして十分な成果を挙げており、また継続性も期待できる内容である。

4-2. 研究交流の有効性

従来型の NMR・結晶構造解析の不足を質量分析が補完するという手法が開拓されている点で評価できる。ESI 質量分析による intact な生体分子の構造および機能解析は、今後も国内の様々なコミュニティで試用されるものになると思われるが、その応用事例を 2 報の共著論文などで示しており評価できる。ただ、どこまで画期的な発展や新分野開拓に結びつくか、現時点では判断が難しい。

以前から協調していた相手先であり、交流はスムーズであったが、新たな交流人材の育成という面では、ほとんど取り上げるべき成果はなかった。しかし Robinson 博士の来日など、間接的な面での交流促進はあり、さらに、代表者自身の成長と言う意味で人材育成は図られた。

なお、当事業の以前からの協調関係もあり、今後とも持続的に発展できる内容である。

4-3. 当初目標の達成度

交流体制は適切であったと判断するが、若手を多数巻き込んで交流を深めていくといった方向には進まなかった。異なる技術の長所短所の補完を狙った研究という点では適切と判断される。

日本から英国への訪問が達成できなかったことなどから、あまり計画どおりではないが、上述したようにすでに信頼関係が醸成されていたため、必要性が薄かったということが考えられる。ただ、そうであればさらに、会議などの開催による外部への発信が期待された。