

2023 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2023 年度採択研究代表者

八代 悠歌

東京大学 大学院新領域創成科学研究科
特任助教

RNA 修飾酵素によるマイクロ RNA 発現制御の分子基盤解明

研究成果の概要

近年の研究により、RNA に化学修飾を導入する RNA 修飾酵素が様々な機能をもつことが明らかにされてきている。本研究では、miRNA の成熟過程における RNA 修飾酵素の機能に着目し、X 線結晶構造解析、クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析、および生化学の手法をもちいて、RNA 修飾酵素の基質認識や作用における分子基盤の解明に取り組む。

本年度は、構造解析および生化学解析の対象としたタンパク質および RNA の調製に取り組んだ。また、調製したタンパク質と RNA をもちい、酵素活性の確認や、タンパク質間およびタンパク質と RNA 間の相互作用の解析をおこなった。特に、RNA 編集酵素 ADAR1 による miRNA 前駆体の A-to-I RNA 編集に関して重点的に取り組んだ。昆虫細胞発現系において過剰発現した ADAR1 タンパク質について、カラムクロマトグラフィーによる精製方法を確立した。また、精製した ADAR1 リコンビナントタンパク質をもちいて miRNA 前駆体に対する試験管内反応をおこない、イノシン化部位を検出した。その結果、ADAR1 が試験管内の反応系においても、標的 miRNA 前駆体の特定の位置のアデノシンをイノシンへと変換することが確認された。

さらに、ADAR1 が miRNA 前駆体の A-to-I RNA 編集をおこなう際の基質認識と反応機構を調べるために、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析により ADAR1 と標的 miRNA 前駆体の複合体構造解析を試みた。ADAR1 の活性部位変異体と基質となる miRNA 前駆体の混合溶液をインキュベーションした試料について凍結グリッドを作製し、クライオ電子顕微鏡での観察をおこなった。撮影により取得したデータを解析した結果、ADAR1 タンパク質の粒子像が観察された一方で、タンパク質-RNA 複合体に該当する明らかな粒子像は観察されなかった。したがって、調製した凍結グリッド上では ADAR1 タンパク質と基質 RNA が解離していると考えられ、ADAR1 と基質 RNA の複合体構造を解析するためには観察試料の調製方法を改善する必要があることが判った。