

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	RNA合成酵素の反応制御分子基盤
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・研究グループ長
氏名	富田 耕造

### 1. 当該年度の研究目的

平成23年度は、1)ウイルス由来 RNA 合成酵素-宿主由来蛋白質との複合体が RNA を合成する際の様子をとらえたX線結晶構造解析、機能解析を通して、宿主蛋白質の RNA 合成における役割を明らかにすることを目指した。具体的には Qbeta ウイルスの RNA 依存性 RNA 合成酵素と、宿主由来の翻訳伸長因子である EF-TU と EF-Ts の複合体による RNA 合成開始、伸長の過程を表した結晶を作成し、それらの構造を決定していく。2) また、マイクロ RNA や特定の mRNA の発現を制御する特殊な鋳型非依存的 RNA 合成酵素の反応機構、反応制御機構を明らかにするため、これらの酵素の安定、大量発現システムを構築し、精製した蛋白質を用いて、構造解析のため結晶化を目指した。具体的にはマイクロRNAの代謝に関わる TUT4 や特定の mRNA の発現を制御する TUT1 の結晶化を目指す。

### 2. 研究の実施状況

平成23年度は、上記研究目的のうち1)に関しては、Qbeta ウイルスの RNA 依存性 RNA 合成酵素と、宿主由来の翻訳伸長因子である EF-TU と EF-Ts の複合体が RNA プライマーを用いずに RNA 合成を開始する様子、また、この複合体が鋳型 RNA 依存的に RNA を合成していく様子(7、8、9、10、14 ヌクレオチドの長さの RNA を合成していく様子)のX線結晶構造解析を行い、これらの構造を決定することに成功した。これらの解析から、Qbeta ウイルスの RNA 依存性 RNA 合成酵素がプライマーを用いずに RNA 合成を開始する分子機構が明らかになった。また、合成伸長過程の解析から、翻訳因子である EF-Tu が鋳型 RNA と合成された RNA の2本鎖をほどこき、効率よく RNA 伸長合成が行われるのを補助する役割を有するとともに鋳型 RNA の出口トンネルを形成することによって、ウイルス RNA ゲノムの複製が完結するまで、鋳型 RNA が複合体から解離してしまうのを防ぐ役割を有していることが判明した。蛋白質合成プロセスで働く翻訳因子が RNA 合成を促進するといったこれまで知られていなかった機能を担っていること明らかになった。また、2)に関しては、大腸菌において大量に発現し、かつ酵素活性を有している状態で発現することに成功した。TUT4の場合には、C末端側を欠損させても酵素活性を保持しており、また、RNA 結合蛋白質である lin28 に依存したマイクロ RNA 前駆体へのポリ U 付加活性が保持されているのを確認した。また、結晶化を行ったが、現在のところ良質な結晶は得られていない。また、TUT1に関しては全長で大腸菌での大量発現に成功し、結晶化を行った。TUT1に関しても、現在のところ良質な結晶は得られていない。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計1件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件 Takeshita D, *Tomita K (* corresponding) Molecular basis for RNA polymerization by Q<math>\beta</math> replicase <i>Nature Structural &amp; Molecular Biology</i> Vol.19, No2, pp229-237, 2012 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計4件</p>	<p>専門家向け 計4件 1. 富田耕造、Translational factors as RNA replication cofactors - Structure and Function of Qbeta replicase -, 横浜、平成23年12月13 - 15日、日本分子生物学会シンポジウム 2. 富田耕造 Structure and Function of Qbeta Replicase- Non-canonical roles for translational elongation factors -, 東京、平成23年11月15日、東京大学分生研泊研究室 セミナー 3. 富田耕造、Translational factors as RNA replication cofactors - Structure and Function of Qbeta replicase -, 台北、平成23年11月10 - 12日、NTU-JST joint meeting on RNA &amp; Biofunctions - Asian studies 4. 竹下大二郎、富田耕造、Molecular basis for RNA polymerization by Qbeta replicase、ソルトレイク、平成23年9月25 - 30日、The 2011 International Symposium on Aminoacyl-tRNA Synthetases 一般向け 計0件</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>富田耕造 「生命科学一つくばの研究者群像」第2章 RNAの世界 つくばサイエンス・アカデミー、2011年(電子版) <a href="http://www.science-academy.jp/reasai/index.html">http://www.science-academy.jp/reasai/index.html</a></p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件  (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>1. 「タンパク質合成因子のRNA合成における新たな役割を解明ー翻訳因子がRNA合成因子として働いていた可能性ー」 産業技術総合研究所プレス <a href="http://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2012/pr20120116/pr20120116.html">http://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2012/pr20120116/pr20120116.html</a> 科学技術振興機構プレス <a href="http://www.jst.go.jp/pr/announce/20120116/index.html">http://www.jst.go.jp/pr/announce/20120116/index.html</a> 2. 「ポリA配列をmRNAに付加するRNA合成酵素の特異性を分子レベルで解明」 (2011年5月9日) <a href="http://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/nr20110509/nr20110509.html">http://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/nr20110509/nr20110509.html</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>研究成果を国民へ広く伝えるために、産総研 広報誌にて研究内容の解説(2011年10月号) RNA合成酵素の特異性を分子レベルで解明 鋳型を用いずにRNAを合成する酵素の開発に期待 <a href="http://www.aist.go.jp/aist_j/aistinfo/aist_today/vol11_10/p16.html">http://www.aist.go.jp/aist_j/aistinfo/aist_today/vol11_10/p16.html</a>  上記Webページ2件に記載したプレス発表により高エネルギー加速器研究機構から取材依頼があり、さらに分かりやすく解説した  KEK ニュースルーム ハイライト 2012/02/16</p>

様式19 別紙1

	<p>ウイルスから学ぶ太古生命体の RNA ワールド  <a href="http://www.kek.jp/ja/NewsRoom/Highlights/20120217090000/">http://www.kek.jp/ja/NewsRoom/Highlights/20120217090000/</a></p> <p>他の活動としては研究成果、研究活動等を広く伝えるために、研究者のウェブページを作成した。  <a href="http://www.tomita-lab.net">www.tomita-lab.net</a></p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計6件</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 化学工業日報 9 ページ 2012/01/16 「たん白質合成翻訳因子 RNA 合成でも役割」</li> <li>2. 科学新聞 4 ページ 2012/01/27 「RNA 合成でのタンパク質合成因子の新たな役割解明」</li> <li>3. マイナビニュース (WEB) 2012/01/17 産総研、タンパク質を合成する「翻訳因子」の RNA 合成での新たな役割を解明 <a href="http://news.mynavi.jp/news/2012/01/17/015/index.html">http://news.mynavi.jp/news/2012/01/17/015/index.html</a></li> <li>4. 日経プレスリリース (WEB) 2012/01/16 産総研と J S T、タンパク質合成因子の RNA 合成における新たな役割を解明 タンパク質合成因子の RNA 合成における新たな役割を解明 -翻訳因子が RNA 合成因子として働いていた可能性- <a href="http://release.nikkei.co.jp/detail.cfm?relID=300627">http://release.nikkei.co.jp/detail.cfm?relID=300627</a></li> <li>5. 日経バイオテック (WEB) 2012/01/17 産業技術総合研究所、タンパク質合成因子の RNA 合成における新たな役割を解明 <a href="https://bio.nikkeibp.co.jp/article/pressrelease/20120117/159042/?ST=academic">https://bio.nikkeibp.co.jp/article/pressrelease/20120117/159042/?ST=academic</a></li> <li>6. つくばサイエンスニュース (WEB) 2012/01/17 タンパク質の合成に関与している翻訳因子の役割で新たな発見：産業技術総合研究所 <a href="http://www.tsukuba-sci.com/index.php?mode=kijiid&amp;id=3305">http://www.tsukuba-sci.com/index.php?mode=kijiid&amp;id=3305</a></li> </ol>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

研究交流、意見交換の場として、研究代表者の所属する産総研の研究者、あるいは外部の研究者を迎えて、セミナーをしていただいた。今後も、同様な研究交流、意見交換の場を設けることを考えている。

1. 「神経特異的 RNA 結合タンパク質・HuD による翻訳制御機構」(2012 年 1 月 20 日)

(公益財団法人 微生物化学研究会 微生物化学研究所 基盤生物研究部 主席研究員 藤原 俊伸 博士)

2. 「リボソームの非翻訳機能の発見ー リボヌクレアーゼ T2 の阻害」(2012 年 1 月 20 日)

(独立行政法人 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門酵素開発研究グループ(北海道センター)研究グループ 長 宮崎 健太郎 博士)

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度 受領額	④(=①-② -③)未受 領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	121,000,000	55,600,000	8,400,000	57,000,000	0
間接経費	36,300,000	16,680,000	2,520,000	17,100,000	0
合計	157,300,000	72,280,000	10,920,000	74,100,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度 受領額	③当該年度 受取利息等 額(未収利息 を除く)	④(=①+② +③)当該 年度合計収 入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	54,369,548	8,400,000	0	62,769,548	62,733,589	35,959	0
間接経費	16,310,865	2,520,000	0	18,830,865	18,830,865	0	0
合計	70,680,413	10,920,000	0	81,600,413	81,564,454	35,959	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	52,020,077	生体分子精製システム、超音波ホモジナイザー等
旅費	17,660	日本分子生物学会参加旅費
謝金・人件費等	9,489,234	博士研究員人件費、研究補佐員人件費、講師謝金
その他	1,206,618	DNAシーケンス解析、英文校正費等
直接経費計	62,733,589	
間接経費計	18,830,865	
合計	81,564,454	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
生体分子精製システム	GEヘルスケア AKTA purifier 10、フラクソコレクター Frac-950、コンダクタビティ及びpHモニタリングモニター、カラムスクリーニングツール他	1	8,077,765	8,077,765	2011/6/21	(独)産業技術総合研究所
超音波ホモジナイザー一式	BRANSON、デジタルモデル、450D-Advanced、101-063-836	1	1,203,930	1,203,930	2011/7/19	(独)産業技術総合研究所
蛋白質結晶化用ナノリッター分注システム	ナノリッター分注装置:英国TTP LabTech社製 Mosquito 他、自動液体分注装置:米国Perkinelmer社製 JANUS	1	25,599,000	25,599,000	2011/10/3	(独)産業技術総合研究所
オートクレーブ(100v 20A カゴ2個付属)	LSX-500 トミー精工	1	546,000	546,000	2011/10/3	(独)産業技術総合研究所
蛋白結晶化観察装置	Formulatrix社 FOR-54 RI	1	10,657,500	10,657,500	2012/2/27	(独)産業技術総合研究所