

**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25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25年度は、前年度に得られたマイクロRNA代謝、分解に関わるヒト由来の鋳型非依存的なRNA合成酵素の結晶の構造解析をすすめるとともに、そのRNA合成酵素とRNAとの複合体、制御因子との複合体の結晶化を試み、それらの解析から、マイクロRNAの代謝、分解を制御する分子基盤を明らかにすることを目的とする。また、前年度に同定したヒト由来の鋳型非依存的なRNA合成酵素と相互作用し複合体を形成する因子のうち、RNA合成制御に関わると考えられるものに関して、それらの機能解析を遂行し、RNA合成(あるいは、RNAの代謝や分解)の制御機構を明らかにしていくことを目指す。その他に蛋白質合成やRNAの品質管理に関与する鋳型非依存的なRNA合成酵素に関しても結晶が前年度得られたため、その構造解析をすすめるとともに、その詳細な反応機構を明らかにすることを目指す。

### 2. 研究の実施状況

平成25年度は前年度得られたRNA品質管理に関わる鋳型非依存的なRNA合成酵素とRNAとの結晶構造を複数決定することに成功し、また生化学的な解析とを合わせることにより、この酵素による動的な反応分子機構を明らかにした。また、別の種類のRNA品質管理に関わる鋳型非依存的なRNA合成酵素とRNAとの結晶の作成にも成功し、その一部に関しては結晶構造決定に成功した。また、ウイルス由来RNA合成酵素と宿主蛋白質との複合体に関して、さらに別の宿主由来の蛋白質との複合体の結晶を作成することに成功した。そして、その構造を決定することにも成功した。構造をもとにした生化学的なウイルスRNAの複製開始の機能解析と合わせることにより、ウイルスRNAの複製開始における宿主由来蛋白質の新たな機能を見出した。さらに、ヒト由来の鋳型非依存的なRNA合成酵素と相互作用し複合体を形成する因子について、その機能解析を行い、その因子が鋳型非依存的なRNA合成酵素の活性を負に制御する役割があること、その負の制御によって、マイクロRNAの生体内での存在量がコントロールされうるといった制御機構を見出した。最後に、ヒト由来の鋳型非依存的なRNA合成酵素群に関して、引き続き、単体、およびRNAとの複合体の結晶化スクリーニングを行った。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 2 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <p><b>Tomita K*</b> &amp; Yamashita S (* corresponding) Molecular mechanisms of template-independent RNA polymerization by tRNA nucleotidyltransferases. <b>Front. Genet.</b> 5: 36. doi: 10.3389/fgene.2014.00036</p> <p>Yamashita S, Takeshita D &amp; <b>*Tomita K</b> (* corresponding) Translocation and rotation of tRNA during template-independent RNA polymerization by tRNA nucleotidyltransferase <b>Structure</b> Vol. 22, No 2, pp315-325, 2014</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件</p> <p>永池崇、<b>富田 耕造</b> ヒトポリ U 付加酵素(TUT)複合体の機能解析 第 36 回日本分子生物学会年会 (2013.12.3-6、神戸)</p> <p>Seisuke Yamashita &amp; <b>Kozo Tomita</b> Molecular basis for RNA polymerization by CC-adding enzyme 9th International Symposium on Aminoacyl-tRNA Synthetases 2013AARS (2013.10.6-11, Hakone, Japan)</p> <p>Daijiro Takeshita &amp; <b>Kozo Tomita</b> Complete crystallographic analysis of RNA polymerization by Qbeta replicase RiboClub annual meeting 2013 (2013.09.23-25, Sherbrooke, Canada)</p> <p>Seisuke Yamashita &amp; <b>Kozo Tomita</b> Mechanism of 3' -CCA addition onto tRNA by eubacterial tRNA nucleotidyltransferases. RiboClub annual meeting 2013 (2013.09.23-25, Sherbrooke, Canada)</p> <p><b>Kozo Tomita</b> Molecular basis for RNA polymerization by Qbeta replicase: Translational factors as RNA replication factors ASBMB special symposia series "EVOLUTION AND CORE PROCESSES IN GENE REGULATION" (2013 7.25-28, Chicago, US)</p> <p>竹下大二郎、<b>富田 耕造</b> Qβレプリカーゼによる鋳型非依存的な末端アデニル化の構造基盤 第 13 回 日本蛋白質科学会年会 (2013 6.12-14 鳥取)</p> <p><b>Kozo Tomita</b> Non-canonical functions of translational elongation factors as RNA elongation factors - Revisiting Qbeta replicase Séminaires, Centre de Génétique Moléculaire (CGM) du CNRS" (2013 4.26 Paris, France)</p> <p>一般向け 計 0 件</p>

様式19 別紙1

<p>図書</p> <p>計 2 件</p>	<p><b>富田耕造</b>、竹下大二郎 Q<math>\beta</math> レプリケースによる RNA 合成の分子基盤 生化学、2014 86(3)号(2014 年 6 月 25 日刊行予定 日本生化学会 印刷中</p> <p><b>富田耕造</b> RNA 複製システムにおける生きた分子化石 「生命分子を統合する RNA—その秘められた役割と制御機構」 実験医学増刊号、2013; 31(7): 994-1000.羊土社</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>研究成果外部発表(2014 年 1 月 20 日) 「<a href="http://imss.kek.jp/news/2014/topics/0120tRNA-CCA/index.html">鑄型を使わずに RNA を合成するしくみを解明</a>」 <a href="http://imss.kek.jp/news/2014/topics/0120tRNA-CCA/index.html">http://imss.kek.jp/news/2014/topics/0120tRNA-CCA/index.html</a> 大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構(KEK) 物質構造科学研究所(IMSS)</p> <p>研究成果外部発表(2014 年 1 月 3 日) 「<a href="http://www.tomita-lab.net/home/publications/press/20140102-2">RNA が酵素上を回転して動く様子をとらえることに成功</a>」 <a href="http://www.tomita-lab.net/home/publications/press/20140102-2">http://www.tomita-lab.net/home/publications/press/20140102-2</a> —鑄型に依存しない RNA 合成の動的反応分子機構を解明—</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>第 13 回産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会 (2014 年 2 月 18-19 日) (つくば)参加 主催: 産業技術総合研究所、産業技術連携推進会議ライフサイエンス部会バイオテクノロジー分科会 研究内容紹介「高次生命現象を支配するマイクロ RNA 発現制御機構の解明」 「肝機能を維持するマイクロ RNA 発現制御機構の分子基盤」 のタイトルで研究成果の一部を発表した 参加者数:200 人 対象者:一般</p> <p>産総研オープンラボ(2013 年 10 月 31 日-11 月 1 日)参加(つくば) 研究内容紹介「高次生命現象を支配する RNA プロセッシング装置」のタイトルで研究成果の一部を発表した 参加者数:500 人 対象者:一般</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計 0 件</p>	
<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、外部の研究者を迎えて、セミナーをしていただいた。

中村彰良博士セミナー(2014 年 3 月 18 日) 産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門  
タイトル「3' から 5' 方向へ RNA 伸長反応を行う酵素 Thg1 の分子機構」

宇田川剛博士セミナー (2014 年 2 月 21 日) 名古屋大学大学院 医学系研究科  
タイトル「シナプスにおける局所的翻訳と可塑性の制御—CPEB と FMRP—

## 様式19 別紙1

高木悠友子博士セミナー(2013年5月9日) Department of Microbiology and Immunobiology Harvard Medical School  
タイトル「mRNA Cap Formation and Degradation in *Trypanosoma brucei*」

## 実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

## 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	92,500,000	28,500,000	0	0
間接経費	36,300,000	27,750,000	8,550,000	0	0
合計	157,300,000	120,250,000	37,050,000	0	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	15,358	28,500,000	0	28,515,358	28,513,358	2,000	0
間接経費	0	8,550,000	0	8,550,000	8,550,000	0	0
合計	15,358	37,050,000	0	37,065,358	37,063,358	2,000	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	17,838,011	実体顕微鏡、タンパク質構造解析用LinuxPC、ハイエンド電動 倒立顕微鏡、対物レンズ63x等
旅費	202,550	国内出張旅費、講演旅費
謝金・人件費等	9,309,437	博士研究員人件費、講演謝金
その他	1,163,360	質量分析費、論文投稿料等
直接経費計	28,513,358	
間接経費計	8,550,000	
合計	37,063,358	

## 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)

下記の表に記載のない50万円以上の物品は消耗品です。

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
実体顕微鏡	オリンパス SZX16	1	1,197,000	1,197,000	2013/7/8	(独)産業技術総 合研究所
タンパク質構造解 析用LinuxPC	CPU: Intel Core i7 3930K メモリ: 32GB, HDD: 1TB	2	535,500	1,071,000	2013/7/12	(独)産業技術総 合研究所
オートクレーブ	トミー精工 LSX- 500	1	546,000	546,000	2013/11/26	(独)産業技術総 合研究所
ハイエンド電動倒 立顕微鏡	カールツァイス ミクロス ビー(株) V字光路 視野数23以上	1	4,494,000	4,494,000	2013/12/26	(独)産業技術総 合研究所
対物レンズ63x	カールツァイス LD Plan- Neofluar63x	1	543,375	543,375	2013/12/26	(独)産業技術総 合研究所