

**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24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24年度は、前年度に明らかにしたウイルス由来RNA合成酵素のRNA合成開始、伸長過程の分子機構に加えて、終結過程の分子機構を明らかにする。また、ウイルスRNA合成酵素と相互作用する他の宿主因子のRNA合成における機能構造基盤を提示することを目指す。また、前年度は鋳型非依存的RNA合成酵素のうち、低分子ノンコーディングRNAの代謝に関わる特殊なRNA合成酵素（ポリU付加酵素）を大腸菌で発現させ、結晶化を試みた。また、特異的なmRNAの翻訳に関与する特殊なRNA合成酵素（ポリA付加酵素）に関しても、同様に、大腸菌で発現させ、結晶化を試みた。いずれの場合も結晶を得るに至っていない。平成24年度は、これらの酵素の一部を欠失させた組み換え体の発現、精製、結晶化を行い、その全体構造を明らかにすることを目指す。

2. 研究の実施状況

平成24年度は、ウイルス由来RNA合成酵素複合体がRNA合成を終結する過程を表した複数のX線結晶構造解析を行った。また、構造をもとにした機能解析をおこなった。この結果、RNA合成終結時における酵素の動き、またウイルスの増殖に必要なRNA合成終結時における鋳型非依存的なモノヌクレオチド付加反応の分子機構が明らかになった。また、鋳型非依存的RNA合成酵素のうち、低分子ノンコーディングRNAの代謝に関わる特殊なRNA合成酵素に関しては、酵素の一部を欠失させても活性を有した最少コア領域を生化学的、分子細胞生物学的手法で同定した。さらにそのコアの領域に関して微小な結晶が得られた。また、この結晶からは放射光施設でのビームラインにて2.8Åまでの回折像が得られた。さらに、この鋳型非依存的なRNA合成酵素と相互作用する因子複合体を、これらの蛋白質を恒常的に発現する細胞の抽出液から免疫沈降によって複合体として精製した。そして、それらを質量分析で解析し、低分子ノンコーディングRNAの代謝を制御すると考えられるいくつかの興味深いタンパク質を同定した。特異的なmRNAの翻訳に関与する特殊なRNA合成酵素については結晶が得られていないが、最小必要ドメインを明らかにした。また、通常の鋳型非依存的RNA合成酵素のうち、RNAの品質管理や修復に関わる酵素とRNAとの複合体、ヌクレオチドとの複合体あるいは単体の結晶がえられ、これらのいくつかに関しては放射光施設でのビームラインにて回折データの取得を行い、現在、それらの構造を決定しつつある。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読あり) 計 1 件 1. Takeshita D, Yamashita S & Tomita K Mechanism for template-independent terminal adenylation activity of Qβ replicase. Structure Vol. 20, No 10, pp1661-1669, 2012</p> <p>(掲載済み一査読なし) 計 2 件 1. 富田耕造、竹下 大二郎 Qβ レプリケースによる RNA 合成の分子機構 細胞工学、2012 ; 31(10): 1154-1155. 秀潤社 2. 富田耕造 鋳型非依存的 RNA 合成酵素の特異性の分子基盤 生化学、2012 ; 84(5): 355-359. 日本生化学会 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 6 件</p>	<p>専門家向け (計 6 件) 1. Kozo Tomita Complete crystallographic analysis of RNA polymerization by Qbeta replicase The 2nd Meeting on RNA and Biofunctions-ASIA Study "RNA biofunctions and Viruses" (2013 1.9-11 Fukuoka, Japan) 2. Kozo Tomita Mechanism of RNA polymerization by viral RNA polymerase complexed with the host-factors Cold Spring Harbor Asia Conferences "RNA Biology" (2012. 10. 8-12, Suzhou, China) 3. 富田耕造 Non-canonical function of translational elongation factors as RNA elongation factors (翻訳伸長因子の RNA 伸長因子としてのはたらき) 第 35 回 日本分子生物学会年会 シンポジウム 「RNA 合成の構造基盤」 招待講演 (2012. 12. 11-14、福岡) 4. Daijiro Takeshita & Kozo Tomita Non-canonical functions of translational factors as RNA replication cofactors 第 50 回 日本生物物理学会年会 (2012 9. 22-24 名古屋) 5. 富田耕造 Qβ レプリケースによる RNA 合成の分子基盤 : 翻訳伸長因子の RNA 伸長因子としてのはたらき 第 14 回 日本 RNA 学会年会 シンポジウム 「ウイルスと RNA—進化・共存・免疫・応用」 招待講演 (2012 7. 18-20 仙台) 6. 富田耕造 RNA 合成をささえる蛋白質合成因子のはたらき 第 12 回 日本蛋白質科学会年会 ワークショップ 「RNA の機能を支える蛋白質」 招待講演 (2012 6. 20-22 名古屋) 一般向け (0 件)</p>
<p>図 書 計 0 件</p>	<p></p>

様式19 別紙1

産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	<p>1. 研究成果外部発表 (2012年8月14日) 「ウイルスゲノムRNAの複製に不可欠な分子機構を解明」 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) 発表 http://imss.kek.jp/news/2012/topics/120814RNA/index.html</p> <p>2. プレスリリース (2012年8月10日) 主な研究成果「ウイルスRNA合成酵素によるRNA合成終結の分子機構を解明」 —抗ウイルス薬剤の開発に期待— 独立行政法人 産業技術総合研究所 発表 http://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/nr20120810/nr20120810.html</p> <p>3. リサーチ・ホットライン (2012年7月1日) 産総研 Today 掲載 (2012年7月号): 産総研広報誌 タンパク質合成因子の新たな役割を解明—翻訳因子がRNA合成因子として働いていた可能性— http://www.aist.go.jp/aist_j/aistinfo/aist_today/vol12_07/p12.html</p>
国民との科 学・技術対話 の実施状況	<p>1. 産総研 オープンラボ (2012年10月25日—26日) 参加 研究内容紹介「RNAが合成されてはたらくまで」のタイトルで研究成果の一部を発表した</p> <p>2. 第12回 産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会 (2013年2月5日—6日) 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「RNAが合成されてはたらくまで」のタイトルで研究成果の一部を発表した (産総研及び公設試験研究機関の研究成果を広く公開し、産総研内外の研究者の相互交流、融合化を促進する事を目的に、企業、大学関連団体等、外部へも参加を呼びかけ開かれた会)</p>
新聞・一般雑 誌等掲載 計2件	<p>1. マイナビニュース (WEB) 2012年8月10日 産総研、ウイルスの合成酵素がRNA末端にアデノシンを付加する仕組みを解明 http://news.mynavi.jp/news/2012/08/10/102/index.html?gaibu=kan</p> <p>2. つくばサイエンスニュース (WEB) 2012年8月10日 ウイルスの遺伝情報複製で残された謎解明 —新タイプの抗ウイルス薬開発に道: 産業技術総合研究所 http://www.tsukuba-sci.com/index.php?mode=kijiid&id=3717</p>
その他	

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 (4件) をしていただいた。

1. 安川武宏博士セミナー (2012年12月21日) 九州大学病院 検査部
タイトル 「ミトコンドリアゲノム: その複製メカニズムとタンパク質因子」
2. 齊藤 博英博士セミナー (2012年12月4日) 京都大学 iPS細胞研究所 初期化機構研究部門
タイトル 「機能性RNA・RNA-タンパク質複合体の分子デザインによる細胞運命制御」
3. 中西孝太郎博士セミナー (2012年6月15日) Structural Biology Program Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (New York, USA)
タイトル 「真核生物由来のArgonauteの結晶構造と機構」
4. 横山武司博士セミナー (2012年5月28日) NewYork州保健局、Wadsworthセンター、トランスレーショナル医療部門
タイトル 「低温電子顕微鏡による単粒子構造解析が解き明かす、原核生物リボソーム再生過程の全体像: リボソーム内でのリボソームリサイクリング因子 (RRF) の軌道」

実施状況報告書(平成24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	64,000,000	28,500,000	28,500,000	0
間接経費	36,300,000	19,200,000	8,550,000	8,550,000	0
合計	157,300,000	83,200,000	37,050,000	37,050,000	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	35,959	28,500,000	0	28,535,959	28,520,601	15,358	0
間接経費	0	8,550,000	0	8,550,000	8,550,000	0	0
合計	35,959	37,050,000	0	37,085,959	37,070,601	15,358	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	17,627,979	大型バイオシェーカー、超高感度マルチプレートリーダー、微量高速冷却遠心機、実験試薬等
旅費	587,060	研究成果発表旅費 (CSHL AISA RNA biology)等
謝金・人件費等	9,317,184	博士研究員人件費、講演謝金
その他	988,378	多機能超遠心機修理費、論文投稿料等
直接経費計	28,520,601	
間接経費計	8,550,000	
合計	37,070,601	

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
微量高速冷却遠心機 他	トミー精工 MX-307	1	972,825	972,825	2012/5/9	(独)産業技術総 合研究所
超高感度マルチプ レートリーダー	フロメカ社 GLOMAX MULTI E8032LD	1	3,118,500	3,118,500	2012/6/14	(独)産業技術総 合研究所
大型バイオシェーカー	タイテック社 GBR-200	1	3,780,000	3,780,000	2012/9/28	(独)産業技術総 合研究所
超低温フリーザー	パナソニック、MDF- U400VX-PJ	1	1,596,000	1,596,000	2012/11/2	(独)産業技術総 合研究所