

第2章 RNAの世界

富田 耕造

産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門

RNA プロセッシング研究グループ長

東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻

生命機能分子工学分野連携講座准教授（兼任）

2.1 はじめに

「DNA 上の遺伝子の青写真-設計図は RNA へと忠実に写し取られ、そして、最終的にタンパク質へと変換される」とする遺伝情報の流れの中心的教義、セントラルドグマは生命現象の基本的原理であり、1960 年代にクリック (F. H. C. Crick) 博士によって提唱された (図 1)。DNA の部分的な塩基配列 (遺伝子) が明らかであれば、その情報によって、最終的にその DNA 塩基配列がコード (暗号で指定) するタンパク質のアミノ酸配列も一通りにきまるということである。したがって、近年の、ヒトゲノムプロジェクトに代表される、私たちヒトの DNA の塩基配列をすべて決定しようとする世界的なプロジェクトは、ヒトをヒトとならしめる設計図を明らかにするという点で、生命科学において非常に重要かつ意味のあるものであった。この古典的なセントラルドグマは、現在の生命現象、生命科学において、確固たる位置を占めており、分子生物学の基礎となっている。

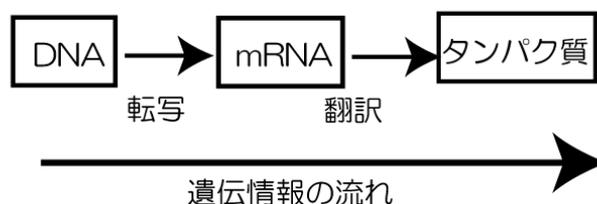


図1 遺伝情報の流れを表したセントラルドグマ

DNA 上の遺伝情報は mRNA へと写し取られ、タンパク質へと変換される。

この古典的なセントラルドグマにおいて、RNA は DNA の情報を正確に写し取ったものであり、基本的に DNA 情報の部分的コピーである。したがって、これまで、RNA を対象とした研究よりも、むしろ DNA を対象にした研究が世界中で精力的に行われてきたということは当然といえる。しかしながら、RNA の生命現象における役割は、単なる DNA のコピーといった脇役的なものではないことが、1980 年以降の研究から明らかになってきた。この頃から、多くの研究者が RNA に注目して研究を行うようになってきた。

まず、RNA 自身が化学反応を触媒するという予想もされなかった現象が発見された。それまで、生体内で化学反応を触媒する物質は、タンパク質すなわち酵素であると考えられていた。しかしながら、RNA も化学反応を触媒することが発見されたことを契機に、RNA は遺伝情報の運び屋であるとともに“酵素”でもあるという概念が提出されたのである(図 2)。そして、この RNA は RNA (Ribonucleic Acid) と酵素 (Enzyme) の性質をもつということになり、リボザイム (Ribozyme) と呼ばれるようになった。

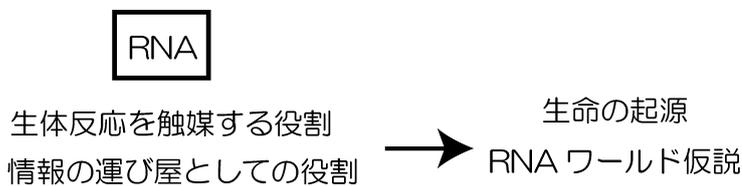


図 2 酵素活性を有する RNA-リボザイム-の発見

リボザイムの発見によって、RNA が遺伝情報の運び屋であり、かつ酵素として働きうると考えられるようになった。また、RNA 分子が太古生命システムで中心的な分子であるとする RNA ワールド仮説が提唱された。

生体内で化学反応を触媒するのは (タンパク質の一種である) 酵素であり、酵素によって遺伝情報の設計図である DNA やそのコピーである RNA が合成される。一方で、この酵素—DNA 合成酵素や RNA 合成酵素など—のアミノ酸配列情報は DNA 上にコードされている。そこで、太古生命システムにおいて最初に出現したのはタンパク質なのか、あるいは核酸なのか? という「タマゴが先か、ニワトリが先か?」といった議論がおきてきた。RNA の

中に酵素活性を有するものがあるという発見によって、太古の生命システムは RNA から成り立っており、RNA が遺伝情報の運び屋としての役割に加えて、化学反応を触媒する役割をも担っていたという、「RNA ワールド仮説」が提唱されるようになった。実際、その後、いろいろな化学反応を触媒することのできる RNA の試験管内での創成が行われ、かつ RNA が触媒する生命化学反応現象が発見されてきた。

また、RNA は DNA の単なるコピーではなく、鋳型となる DNA から RNA へと写し取られたあと、多岐にわたる過程を経て、最終的な機能をもった分子へと成熟することが明らかになってきた (図 3)。たとえば DNA から RNA へと写し取られたあと、RNA の不要な介在部分 (イントロン: intron と呼ばれる) は切り取られ、大事な部分 (エキソン: exon と呼ばれる) 同士が連結されるスプライシング (Splicing) という現象が発見された。すなわち、RNA の塩基配列は、その鋳型である DNA の塩基配列を正確に反映しているわけではないことが明らかになってきたのである。また、DNA 上には上述のようにイントロンといういわば無駄な領域が入り込んでいることが明らかになった。さらに、DNA の情報が RNA へ写し取られたあとに、RNA レベルでの塩基の挿入や削除、また、RNA 塩基の置換、修飾などが生じる RNA 編集 (RNA editing: RNA エディティング) という現象も発見された。この RNA 編集によって、RNA 上の遺伝情報がその鋳型の DNA の遺伝情報とは異なってしまうこともあり、この場合には、DNA の塩基配列から予想されるタンパク質のアミノ酸配列が実際のもものと異なってしまう。これらの成熟化の過程を経ることによって初めて、RNA がタンパク質をコードする遺伝情報伝達分子として機能するようになるだけでなく、その基となる DNA の配列からは予測もつかないあらたな機能を獲得していることも知られてきた。したがって、RNA の基となる鋳型としての DNA の塩基配列を解析しただけでは不十分であり、DNA および RNA 両方の解析をする必要性を研究者は痛感した。これは、古典的なセントラルドグマが通用しないこともありうることを我々に印象づけることになった。

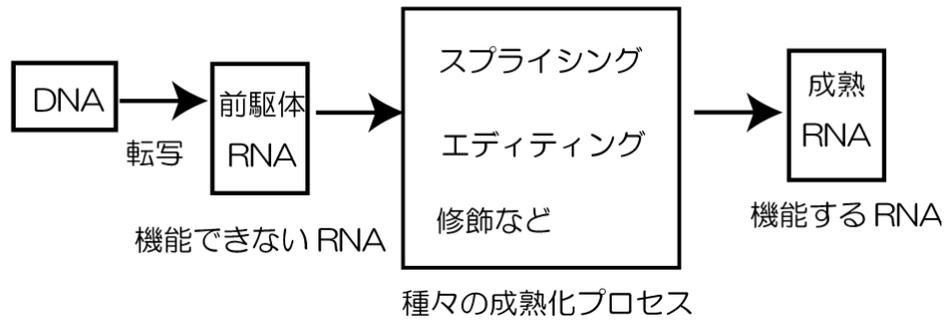


図3 RNA 成熟化のプロセス

RNA は DNA から転写された後、多様な加工プロセスを経て、機能する RNA へと成熟化する。

1990年代には、遺伝子の発現のスイッチオフ、すなわち抑制に、小さな RNA (20~22 塩基長) 分子が関与しているという興味深い現象が発見された。この小さな RNA による遺伝子発現のスイッチオフ現象は RNA による遺伝子発現の干渉という意味で RNA 干渉 (RNA interference: RNAi) と呼ばれている。さらに、生体にはタンパク質へと翻訳されることのない RNA が存在することも明らかになってきた。タンパク質へ翻訳されない RNA としては、古典的な rRNA (リボゾーム RNA : ribosomal RNA) や tRNA (転移 RNA : transfer RNA) などが知られていたが、ごく最近では、生体内には翻訳されない RNA や長さ 20~30 塩基くらいの無数の小さな RNA が存在し、それらの RNA が高次生命現象制御に深く関与していることも明らかになってきている。

1950年代にワトソン (J. Watson) 博士とクリック博士によって DNA の二重らせん構造モデルが発表され、それにひきつづく 20 年以上の間に、急速に現代分子生物学の基礎が確立され、発展してきた。そして、1980年代に入り、前述したような、予想もしなかったような RNA の触媒機能や成熟化機構が発見され、そして 21 世紀になって無数の翻訳されない RNA、小さな RNA が発見されてきた。

本章では、セントラルドグマの提唱以降、私たち研究者が RNA を単なる DNA のコピーとしての脇役的な生体分子から、中心的な未知の機能を有した分子、生命の起源を探るうえで重要な分子として認識するにいたった発見、研究についていくつかの例を示しながら概

説したいと思う。

2.2 RNA の多様性

1950年代にワトソン博士とクリック博士がDNAの二重らせん構造モデルを発表する以前から、生体内にはDNAとは性質の異なる核酸が存在することが知られていた。今では、この核酸の構成単位の化学構造がDNA (deoxyribonucleic acid) のデオキシリボヌクレオシド (deoxyribonucleoside) とは異なり、リボヌクレオシド (ribonucleoside) であるためRNA (ribonucleic acid) と呼ばれている (図4、-OHを含む五角形が糖 (リボースとデオキシリボース))。

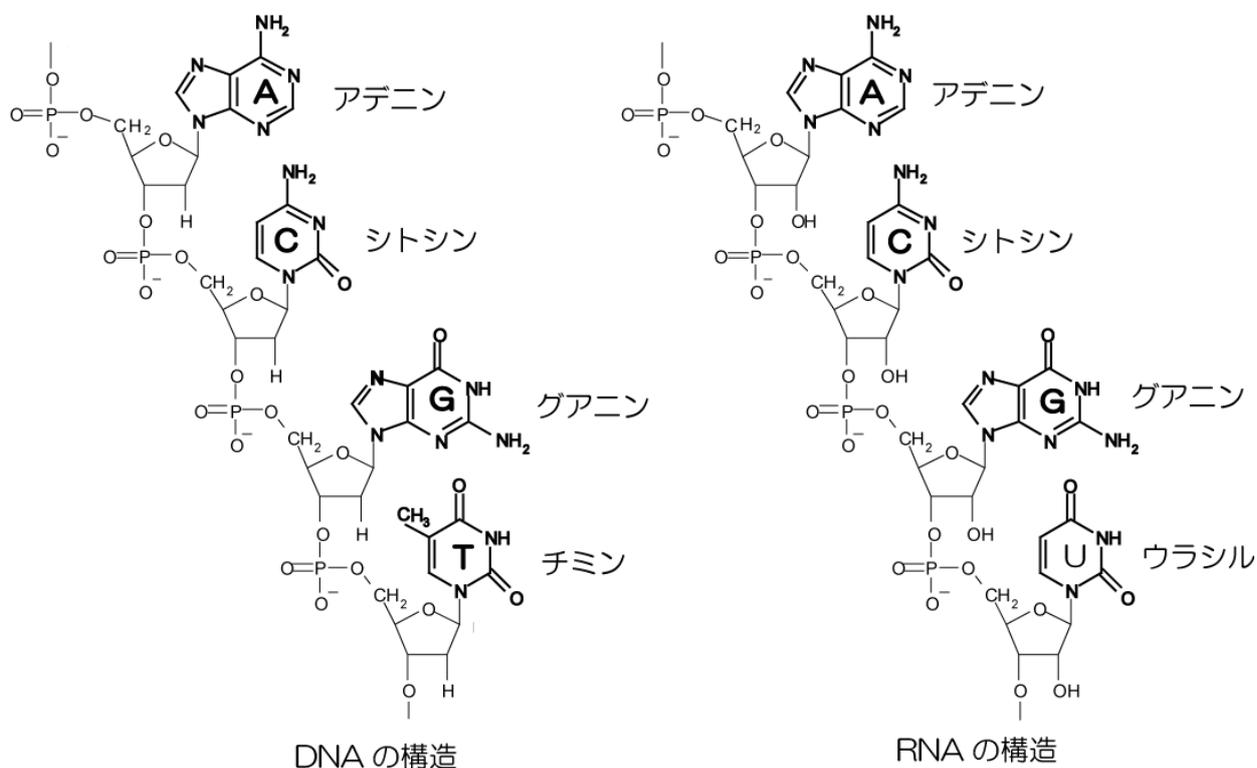


図4 DNA と RNA の化学構造の違い

RNAはA (アデニン)、G (グアニン)、C (シトシン)、U (ウラシル: DNAではチミン) の4種類の塩基を含み、また、リボースの2位(2')は水酸基である(DNAでは水素)。なお、この左が3'位、-CH₂が5位(5')。

セントラルドグマにおけるRNAは、一般にタンパク質をコードするmRNA(伝令RNA:

messenger RNA)、mRNA 上の遺伝暗号とアミノ酸とを結びつけるアダプター分子である tRNA (転移 RNA: transfer RNA)、そしてタンパク質合成装置であるリボゾーム中に含まれる rRNA (リボゾーム RNA: ribosomal RNA) というタンパク質の合成に関与する 3 種類の RNA のことを表す。生体内に存在する RNA 成分のうち、rRNA がおよそ 80% を占め、tRNA が十数%、そして mRNA が数% を占めている。現在では、古典的なセントラルドグマにおける上記 3 種類の RNA 以外に多くの種類の RNA が存在する事が知られている (図 5)。スプライシング (詳細は後述) に関与する核内 snRNA (small nuclear RNA)、rRNA の修飾に関与する核小体中にある snoRNA (small nucleolar RNA)、tRNA の前駆体から余分な配列を除去するのに関与する RNaseP RNA (ribonuclease P RNA)、タンパク質の品質管理に関与する tmRNA (transfer-messenger RNA) などの RNA がセントラルドグマ提唱後見出されてきた。その他、ごく最近では、タンパク質をコードしない多種多様な ncRNA (non-coding RNA、ノンコーディング RNA)、小さな miRNA (micro RNA) と呼ばれる、いまだにその機能の全貌が明らかにされていない数多くの RNA が見出されており、RNA の種類は、我々が予想していた以上に多いということが次第に明らかになってきている。

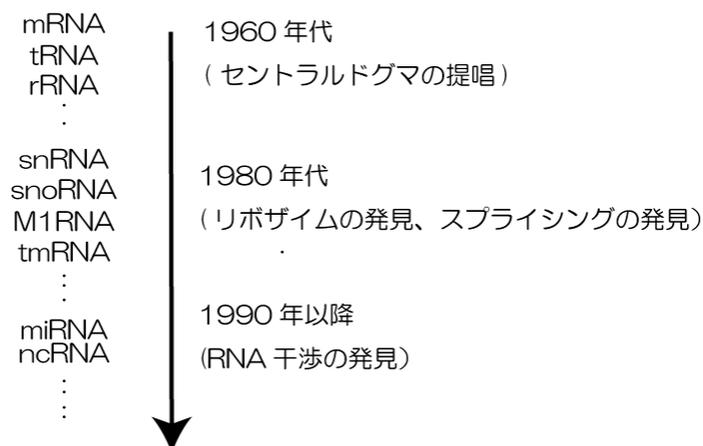


図 5 拡大する RNA の種類

セントラルドグマ提唱後、これまでいろいろな種類の RNA が発見されてきた。

これらの全ての RNA は鋳型である DNA から RNA 合成酵素によって、転写、合成される。

RNA は DNA のコピーであり、DNA の情報は忠実に RNA へと写し取られている。そして、RNA 上の遺伝情報は、その RNA が mRNA の場合には、タンパク質合成装置であるリボゾーム上で、遺伝暗号表にしたがってタンパク質に翻訳変換される。クリック博士が提唱したセントラルドグマでは、RNA は mRNA のことを表しており、そのドグマは、タンパク質をコードする DNA 配列からタンパク質のアミノ配列が予測できるということをも示唆していた。

2.3 RNA 酵素、リボザイム

長い間、「全ての生体反応は、酵素すなわちタンパク質が行う」と考えられており、例外はあり得ないと信じられていた。しかしながら、1980 年代にアメリカのチェック (T. Cech) 博士、アルトマン (S. Altman) 博士らはそれぞれ独立に、RNA 分子が生体反応を触媒するという驚くべき現象を発見した。

テトラヒメナとよばれる繊毛虫類において、rRNA の前駆体中のイントロンが切り出され、エキソン同士が連結される。チェック博士らはこのイントロンの切り出し反応にはタンパク質を必要とせず、グアノシン三リン酸 (GTP) と二価のマグネシウムイオンが存在すれば中性条件下で自動的に進行しうる (自己スプライシングと呼ぶ。) ことを明らかにした。のちに、このイントロンはグループ I イントロンと呼ばれるようになった。このグループ I イントロンの自己スプライシングは、グアノシン三リン酸のリボース 3 位の水酸基が 5 ‘側のエキソンの 3’ 末端のリン酸結合を求核攻撃して切断し、引き続き 5 ‘側のエキソンの 3’ 末端のリボースの水酸基が、イントロン 3’ 側のエキソンとの間のリン酸結合を求核攻撃してイントロンを切り出し、エキソン同士が連結される連続的な反応であることも明らかになった (図 6)。

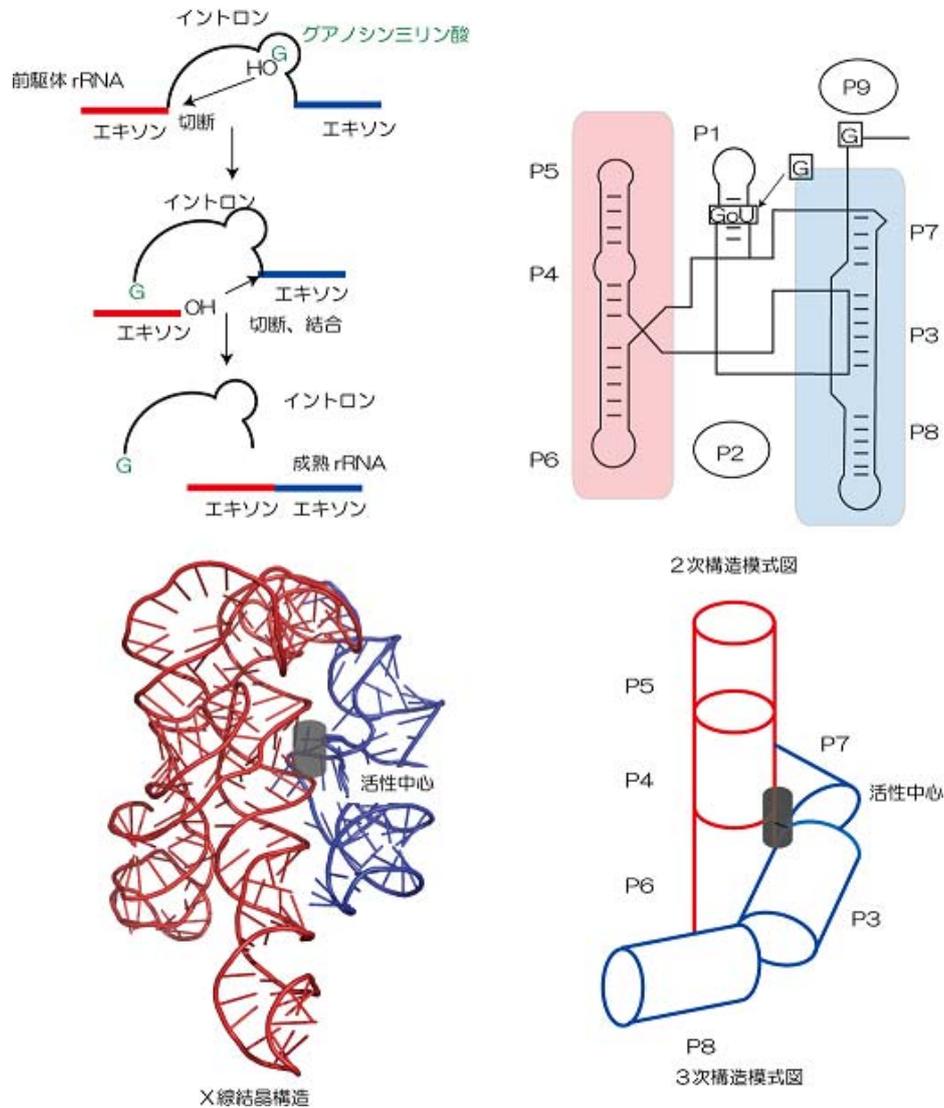


図6 リボザイムの発見

グループ I イントロン。テトラヒメナ rRNA のイントロンは自己スプライシングによって切り出される。イントロンは特徴的な複雑な二次構造をとっている。X線結晶構造解析によって、その三次元構造が決定され、ふたつの連続するヘリックス構造（赤、青で表示）から構成され、このふたつのヘリックスの隣接部分で活性触媒コアを形成している。図中の P1～P9 は RNA のドメインユニットを表す。

一方、アルトマン博士らは大腸菌における前駆体 tRNA の 5' 末端領域にある余分な配列（リーダー配列）を取り除く酵素、リボヌクレアーゼ P について研究を行っていた。このリボヌクレアーゼ P と呼ばれる酵素は RNA（M1 RNA と呼ばれていた）とタンパク質からな

る複合体である。当時は、生体内で化学反応を触媒するのは例外なくタンパク質であると信じられていた。ところが、アルトマン博士らは二価マグネシウムの存在下で、リボヌクレアーゼ P の構成成分のタンパク質ではなく、M1 RNA 成分のみで、tRNA 前駆体からリーダー配列が取り除かれることを発見したのである（図 7）。

これらの酵素活性をもった RNA を、前述のように RNA と酵素にちなんでリボザイム (Ribozyme) と呼ぶようになったのである。リボザイムの発見により、RNA 分子は遺伝子情報の伝達分子としてだけでなく、酵素としても働きうることが明らかになり、ギルバート (W. Gilbert) 博士は、RNA 分子が太古生命を構成する分子であるとする“RNA ワールド”仮説を提唱した。

その後、自己切断能力を有した RNA が続々と発見され、また後述する試験管内進化法という方法を用いて、RNA と RNA を結びつける RNA リガーゼ活性を有するリボザイム、RNA を合成する RNA ポリメラーゼ活性を有するリボザイムの選択、分離が行われた（図 8）。

RNA ワールドにおいては、このような、RNA の切断、連結、合成をすべて RNA のみで行うことによって、さらに別の機能を有した RNA 分子を作り出して多様性を増加させ、進化していったのではないであろうか。また現在まで、RNA の代謝に関わるリボザイムとして、RNA ヘリン酸基を転移する活性を有するキナーゼリボザイム、mRNA の翻訳開始に重要な役割を担うキャップ構造と呼ばれるメチル化されたグアノシン三リン酸を RNA の 5' 末端へ付加する酵素活性をもつリボザイムなどの分離も行われてきた。また後述するように、RNA の末端にアミノ酸を付加することができるアミノアシル tRNA 合成活性を有したリボザイムの分離、タンパク質合成工場であるリボゾーム中の RNA 成分がペプチド結合形成を触媒するリボザイムであるなど、A、G、U、C のたった 4 種類のヌクレオシドからなる RNA がもつ機能の多様性は、20 種類のアミノ酸からなるタンパク質に匹敵しうることが明らかになってきた。

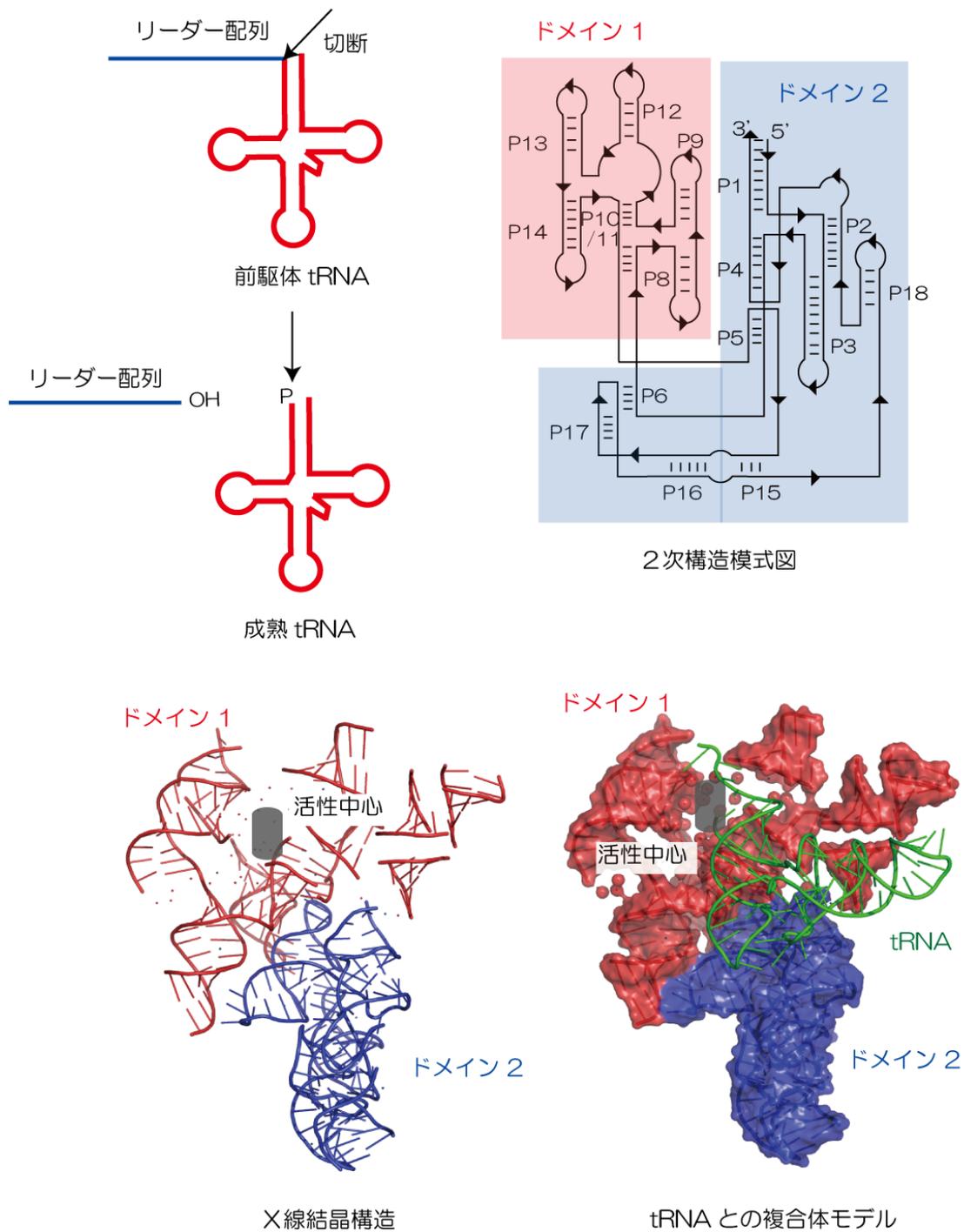


図 7 RNaseP RNA

RNase P RNA によって tRNA 前駆体からのリーダー配列が切り出される。RNase P RNA は複雑な二次構造をとり、ふたつのドメインからなる。ドメイン 1 が活性触媒ドメインとなっている。X線結晶構造解析で、その三次元構造も決定されており、前駆体 tRNA の認識のモデルも提唱されている。

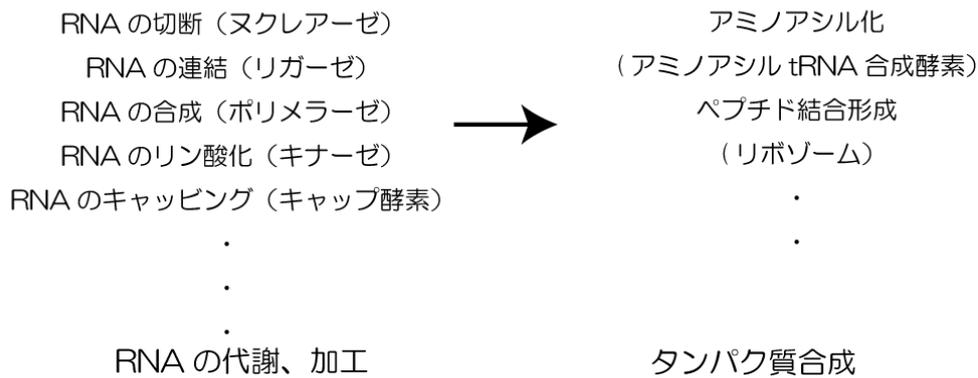


図8 拡大するリボザイムの種類

RNA ワールドでは、RNA の代謝に関わるリボザイムのほかに、タンパク質合成に関わるリボザイムも創成されてきた。

2.4 アミノアシル tRNA 合成リボザイム

RNA が遺伝情報の運び屋であるとともに、酵素としても働きうるということから、太古生命システムは RNA のみからなっていたとする生命起源説「RNA ワールド仮説」がギルバート (W. Gilbert) 博士によって提唱された。それでは、この太古の RNA 分子が中心であった RNA ワールドがどのようにして、DNA、RNA そしてタンパク質からなる、現存する生命システムへと変化したのであろうか？

タンパク質はアミノ酸がペプチド結合で連結されたものであるが、現存する全ての生物では、まず tRNA の CCA 末端にアミノアシル tRNA 合成酵素によってアミノ酸が連結され(末端にアミノ酸が付加された tRNA をアミノアシル tRNA という) (図9)、次にアミノアシル tRNA がリボゾームというタンパク質合成工場へ運ばれて、リボゾーム上の伝令 RNA (mRNA) 上の遺伝情報にしたがってアミノ酸同士が連結されていく。mRNA の情報に基づくタンパク質合成、これを翻訳という。

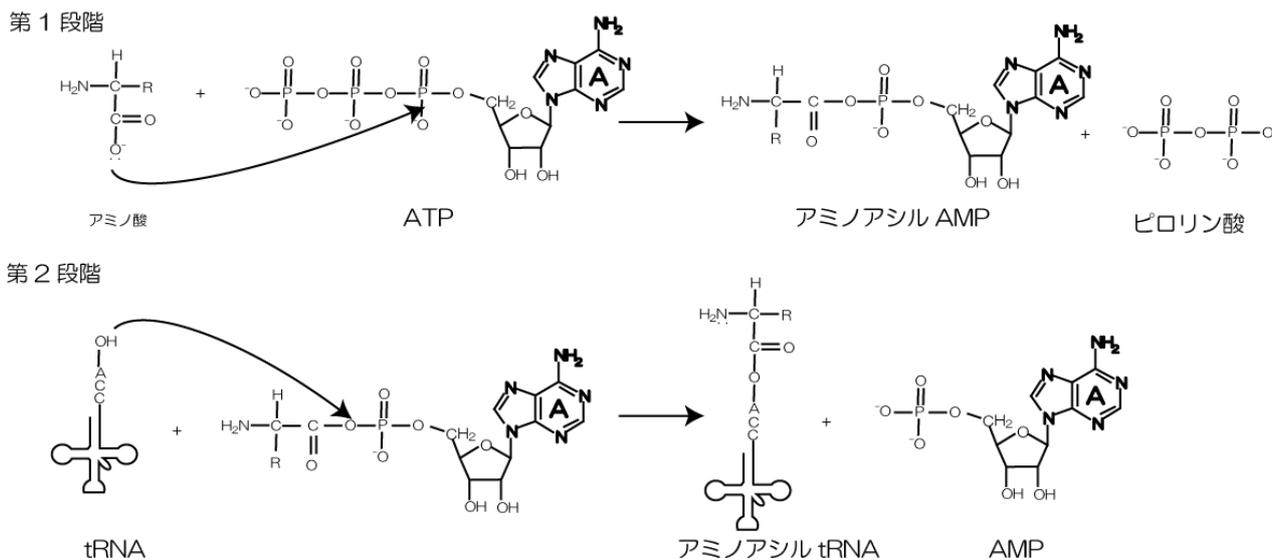


図9 tRNAのアミノアシル化反応

アミノアシル tRNA 合成酵素による tRNA 末端へのアミノ酸付加反応(アミノアシル化反応)は2段階で進行する。1) アミノ酸を活性化し、2) 活性化されたアミノ酸を tRNA へ転移させる。

RNA ワールド仮説が提唱され、太古のタンパク質合成システムにおいては、RNA 自身がアミノアシル tRNA 合成酵素と同様に RNA の末端へアミノ酸を付加する酵素活性を有していたのでは、と考えられるようになった。

アメリカのヤーラス (M. Yarus) 博士らは RNA の末端へアミノ酸を付加することのできる RNA 分子を“試験管内進化”法 (SELEX: Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) という方法で選択分離することに成功した。試験管内進化法は、ランダムな配列からなる多様な RNA 集合体 (RNA プール) からある機能をもった RNA を選択し、それを濃縮していく方法で、何億年という進化の過程を試験管内で行うことができる。この方法は、目的の RNA を選択後、それを RNA から DNA を合成することができる逆転写酵素で DNA とし、耐熱性の DNA 合成酵素を用いた PCR (ポリメラーゼ連鎖反応: Polymerase Chain Reaction) によって増幅し、再びその DNA から RNA 合成酵素を用いて RNA へと変換する (図 10)。この選択と増幅を繰り返すことによって、機能をもった RNA を濃縮することができる。

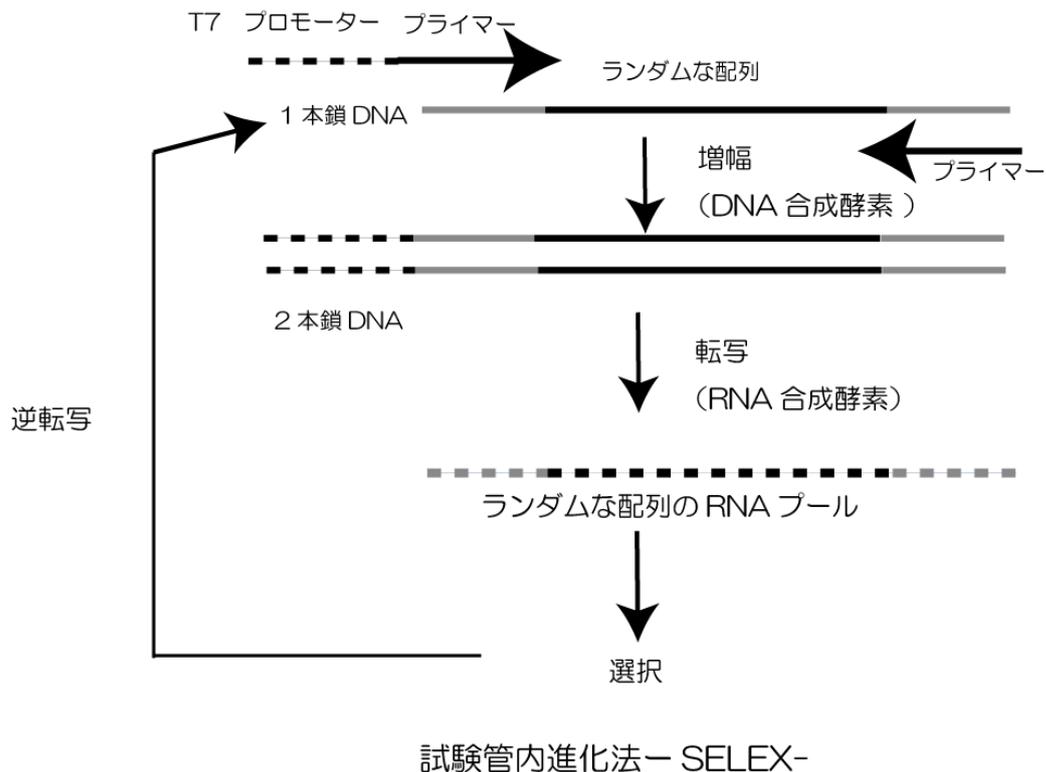


図 10 試験管内進化法—SELEX—

試験管内進化法では、ランダムな配列の RNA プールから、特定の機能をもった RNA 種を選択濃縮することができる。

ヤーラス博士らはこの方法を用い、ランダムな配列の RNA 分子種のプールの中から RNA の末端にアミノ酸（フェニルアラニン）を付加することができる機能性 RNA を何種類か分離することに成功している。

アミノアシル tRNA 合成酵素は通常、アミノ酸を ATP を用いて活性化し（アミノアシル AMP と呼ぶ）、その活性化されたアミノ酸を tRNA の末端のリボースの水酸基へ転移させる。ヤーラス博士らが選択した RNA はアデニル化されたフェニルアラニンを自分自身の 3' 末端へ転移する活性をもっている。この RNA は約 90 塩基長であり、RNA 分子内で RNA 同士が相補的な塩基対を形成し、部分的な二重鎖を形成した（ステム - ループとよばれるくびれ状）構造がふたつ連結された形をしている。さらに、自分自身をアミノアシル化するために必要な最小領域を解析したところ、43 塩基からなる、やはり二つのステム - ループが向き合った形をとっており、特にステムの間の領域が活性中心であることもわかった。たった 4

種類のヌクレオチドで、しかも 43 塩基長の RNA がアミノアシル tRNA 合成酵素と同じ反応を触媒するのはまったく予想外であった。

アミノアシル tRNA 合成酵素は、上述のようにアミノ酸を活性化し、その後、活性化されたアミノ酸を tRNA の 3' 末端に転移する。アメリカの菅裕明博士らは、ヤーラス博士らのリボザイムよりも、実際のアミノアシル tRNA 合成酵素による反応に似たりボザイムの単離に成功している (図 11)。このリボザイムはアミノ酸認識ドメインと触媒ドメインからなり、ひとつはグルタミン酸(実際にはそのアナログ(類似物質)でシアノエステル化されたグルタミン酸)を認識するドメインで、このドメインにグルタミン酸が結合して、もう一つのドメインの 5' 末端にグルタミン酸が活性化された状態で結合する。次に、この活性化されたグルタミン酸が tRNA の CCA 末端に転移、付加される。この例は、RNA が別のドメインを付加、増設することによって、特異性や機能を拡張することができるということを示したものである。さらにごく最近では、菅博士らは、活性化されたフェニルアラニンの特異的に認識し tRNA の 3' 末端へ付加するリボザイムの選択に成功している (図 12)。このリボザイムはフレキシザイムと名づけられたが、長さ 45 ヌクレオチドであり、tRNA の 5' 側に tRNA の前駆体に見られたリーダー配列のように付加させることによって(図 7)、tRNA の 3' 末端に特異的にフェニルアラニンを付加することができる。なお、このフレキシザイムは RNase P RNA によって切り離すこともできる。たった 45 ヌクレオチドの長さの RNA がアミノアシル化反応を触媒するとともに、高い特異性を有しているということは非常に驚きであった。

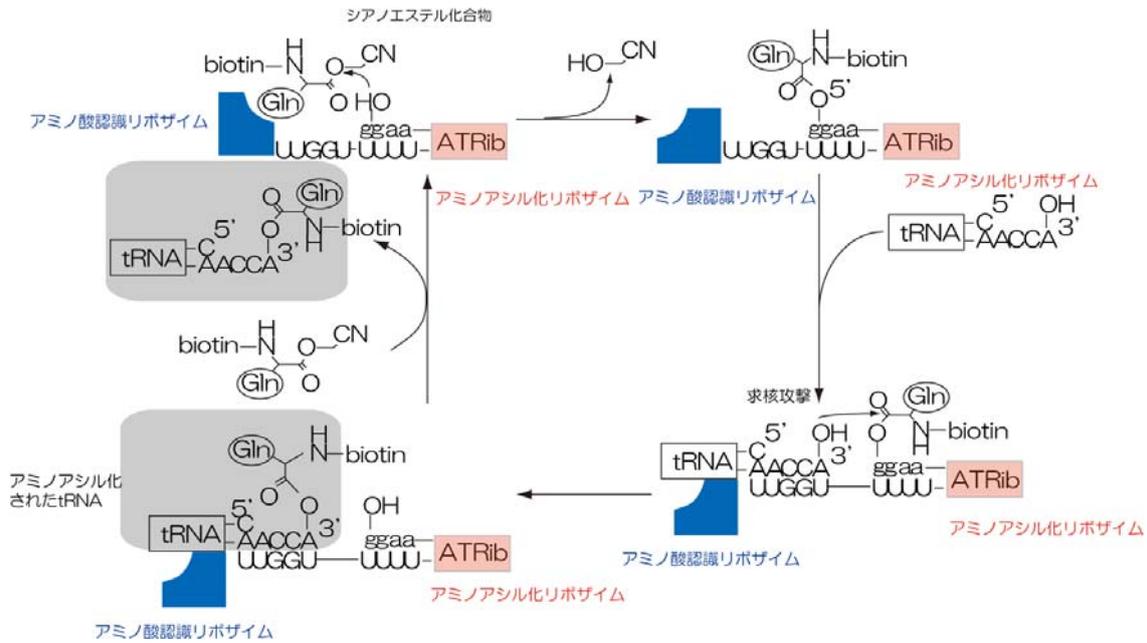


図 11 進化させたアミノアシル化リボザイム

アミノ酸特異性を持たせ、通常のタンパク質性アミノアシル化合成酵素のように2段階の反応によって tRNA の末端にアミノ酸を転移するリボザイムが分離された。

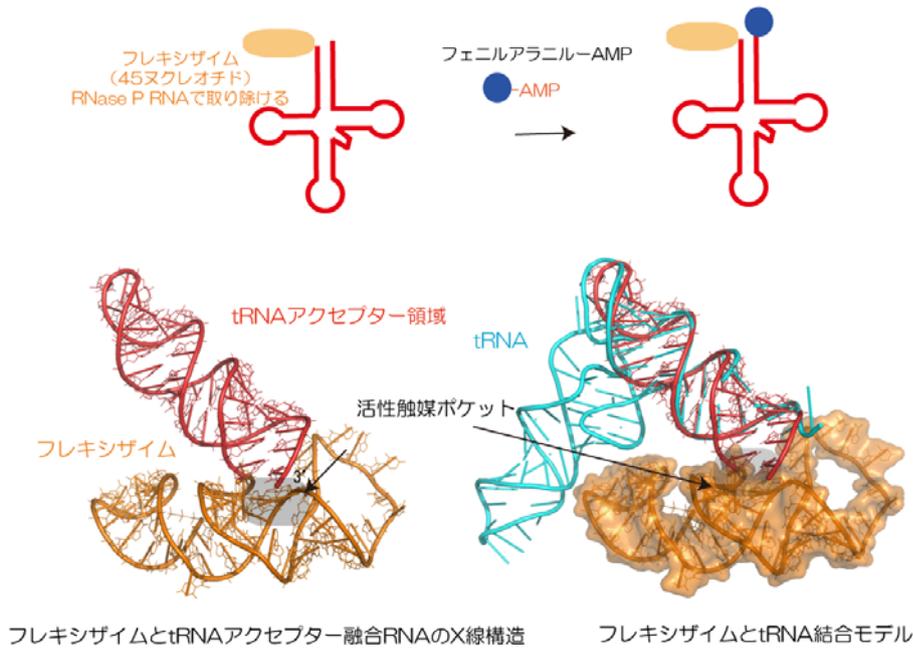


図 12 フレキシザイム

tRNA の前駆体に見られるリーダー配列をアミノアシル化活性を持つリボザイムで置き換えることによって、効率よく tRNA の 3' 末端へアミノ酸を付加できる。このフレキシザイムは高いアミノ酸認識特異性を持っている。

2.5 リボゾームはリボザイム

タンパク質合成システムの誕生は、太古 RNA ワールドから現存の生体システムへと遷移

する大きなイベントであったと考えられている。すなわち、RNA の世界にタンパク質が誕生するイベントである。RNA が RNA の末端へアミノ酸を付加することができることが、発見、実証された。それでは、いかにして付加されたアミノ酸同士が互いに結合され、タンパク質の骨格であるペプチド結合が形成されるように至ったのであろうか？

現存のタンパク質合成、すなわち、ペプチド結合形成反応(図 13)はリボゾームとよばれる巨大な複合体において行われている。このリボゾームは、大腸菌の場合にはふたつの大きなサブユニットからなり、小サブユニット(30S とよぶ)は 21 種類のタンパク質と約 1500 塩基長の RNA 分子 (16s rRNA)、大サブユニット (50S) は 34 種類のタンパク質と約 2900 塩基長の RNA 分子 (23s rRNA) と 120 塩基長の RNA 分子 (5s rRNA) からなり、いわば巨大な RNA-タンパク質複合体である (図 14)。リボゾーム研究における未解決の問題は、長い間、ペプチド結合形成を触媒するのはリボゾーム中の RNA 成分 (rRNA) かあるいはタンパク質成分かということであった。RNA が酵素反応を触媒することが発見されるまでは、当然リボゾーム中のタンパク質成分がペプチド結合形成反応を触媒すると考えられていた。しかしながら、リボザイムの発見から、リボゾーム中の RNA 成分がペプチド結合反応を触媒する可能性もあると考えられるようになった。これは、前述の tRNA の前駆体からリーダー配列を取り除くリボヌクレアーゼ P がタンパク質と RNA から構成されており (図 7)、RNA 自身が活性を有しているということと状況がよく似ている。

アメリカのノラー (H. Noller) 博士らは非常に高い温度で生育できるバクテリアからリボゾームを調製し、リボゾームをフェノール (強力なタンパク質変性薬品) で処理したり、タンパク質分解酵素処理や SDS (界面活性剤の一種) 処理を行った。そしてこのようにリボゾームからタンパク質成分を除去しても、ペプチド結合形成反応を触媒する活性を残しているという注目すべき実験結果を発表した。このようなタンパク質を変性、除去したりリボゾームによるペプチド結合形成触媒反応は、通常のリボゾームのペプチド結合形成反応を阻害することのできるクロラムフェニコールのような抗生物質で阻害された。また、タンパク質を除去したあと、RNA を分解する酵素を加えると、ペプチド結合形成反応が失わ

れることも明らかになった。この実験では、わずかに残存しうるタンパク質成分がペプチド結合形成触媒として働く可能性を完全には否定できないが、リボゾーム中の RNA 成分がペプチド結合形成触媒反応に深く関与している、あるいは触媒基そのものであることを実験的に示したものである。その後の、多くの研究者による生化学的な研究により、タンパク質に助けられて rRNA がきちんと折り畳まれていることが、その触媒活性の十分な発揮に必要なことも明らかになり、現在では、ペプチド結合形成も RNA で触媒されうるといふ RNA ワールド仮説を支持する発見であると考えられている。

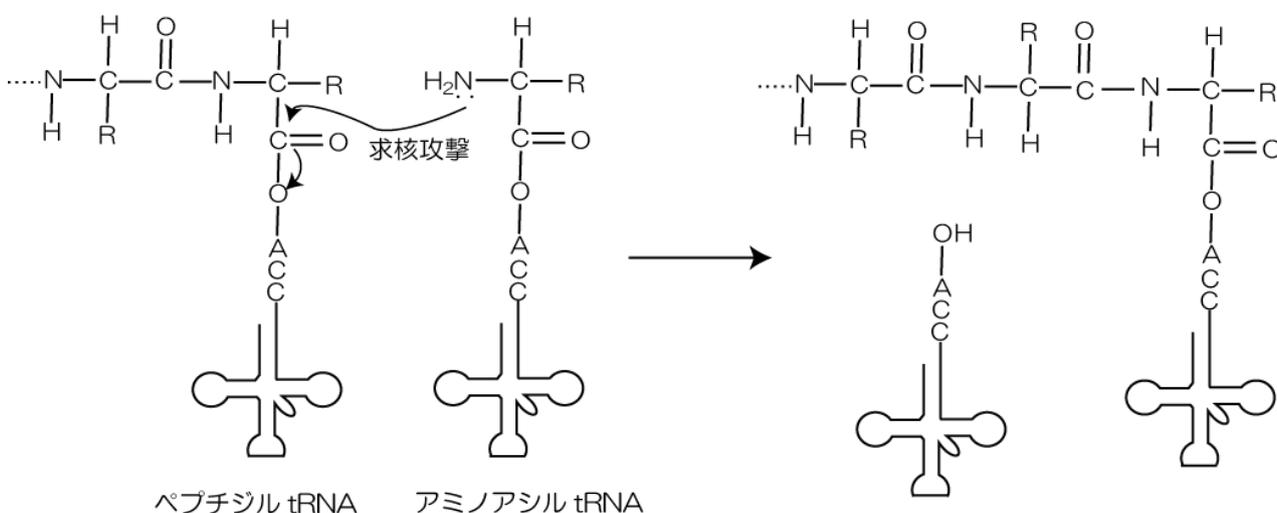


図 13 ペプチド結合形成反応

アミノアシル tRNA のアミノ酸のアミノ基がペプチジル tRNA のカルボニル炭素を求核攻撃する。

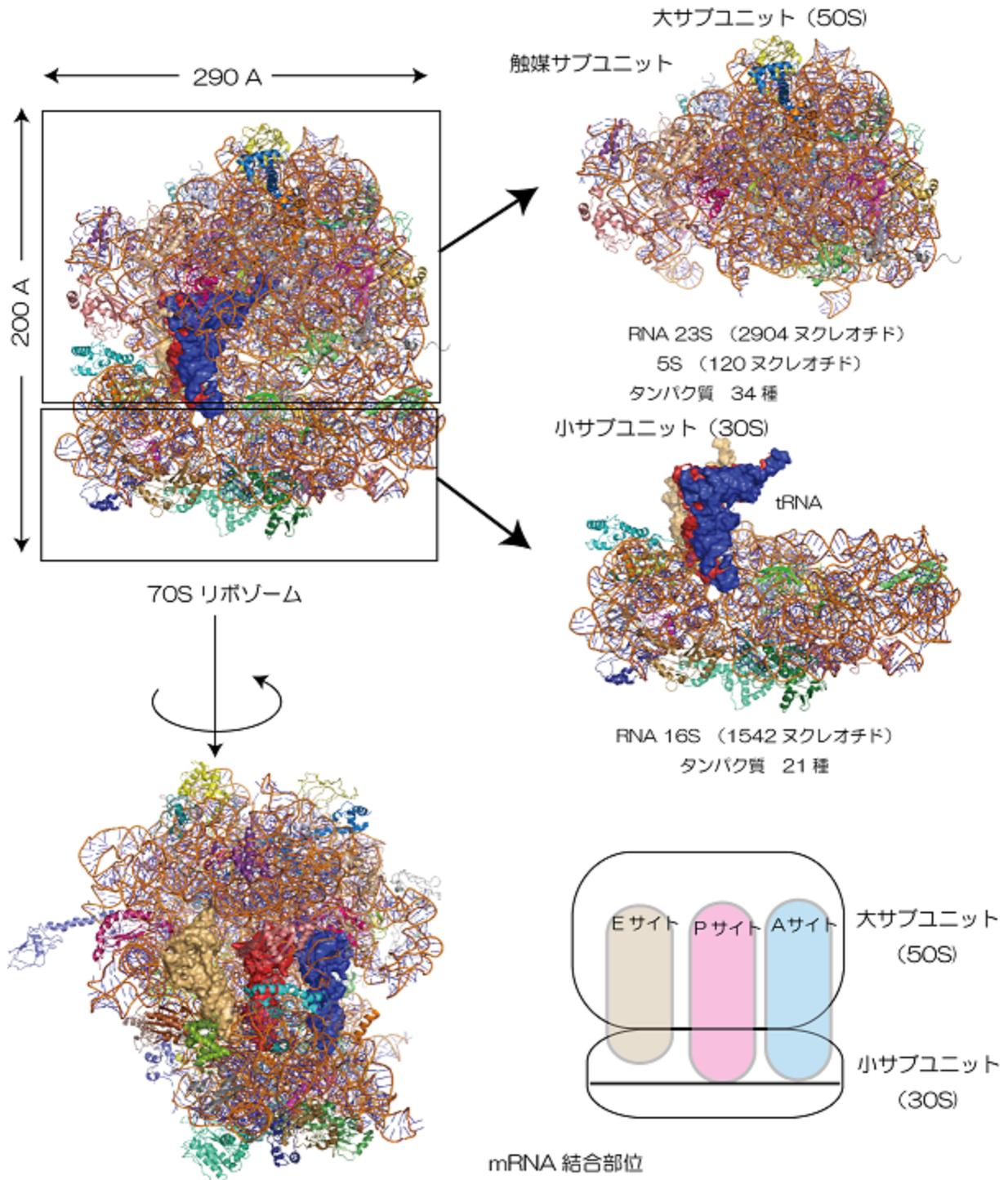


図 14 リボゾームの構成成分

リボゾームはタンパク質と RNA から構成される複合体である。ふたつのサブユニットのうち大サブユニットにペプチド結合形成触媒機能が存在する。リボゾームには 3 つの tRNA 結合部位、A、P、E サイトが存在し、A サイトにはアミノアシル tRNA、P サイトにはペプチジル tRNA、そして E サイトにはデアシル tRNA が結合する。

このことは、さらに、リボゾームの原子レベルでの立体構造解析からも明白になってき

た。アメリカのシュタイツ (T. Steitz) 博士、ムーア (P. Moore) 博士らは、X線結晶構造解析によってリボゾームの構造決定に成功した (図 15)。シュタイツ博士、ムーア博士らは、ペプチド結合触媒機能を有するリボゾームの大サブユニットの X線結晶構造解析を行った。リボゾームでのペプチド結合形成反応は、アミノアシル tRNA の末端に付加されたアミノ酸のアミノ基がペプチジル tRNA のエステル結合を求核攻撃する反応であるが (図 13)、X線結晶構造解析からこれらの基質の結合する領域である触媒中心 (ペプチジル転移センター : Peptidyl-Transferase Center) の近傍 (25 Å以内) にはリボゾームを構成するタンパク質成分は全く位置せず、RNA のみが存在することが明らかになった。これらの結果から、やはりペプチド結合形成触媒の機能は、リボゾーム中のタンパク質成分でなく、RNA が担っているということが強く示唆された。シュタイツ博士、ムーア博士らが述べているように、まさに“リボゾーム”はリボザイムであるというのが現在の研究者の間での共通した概念になっている。

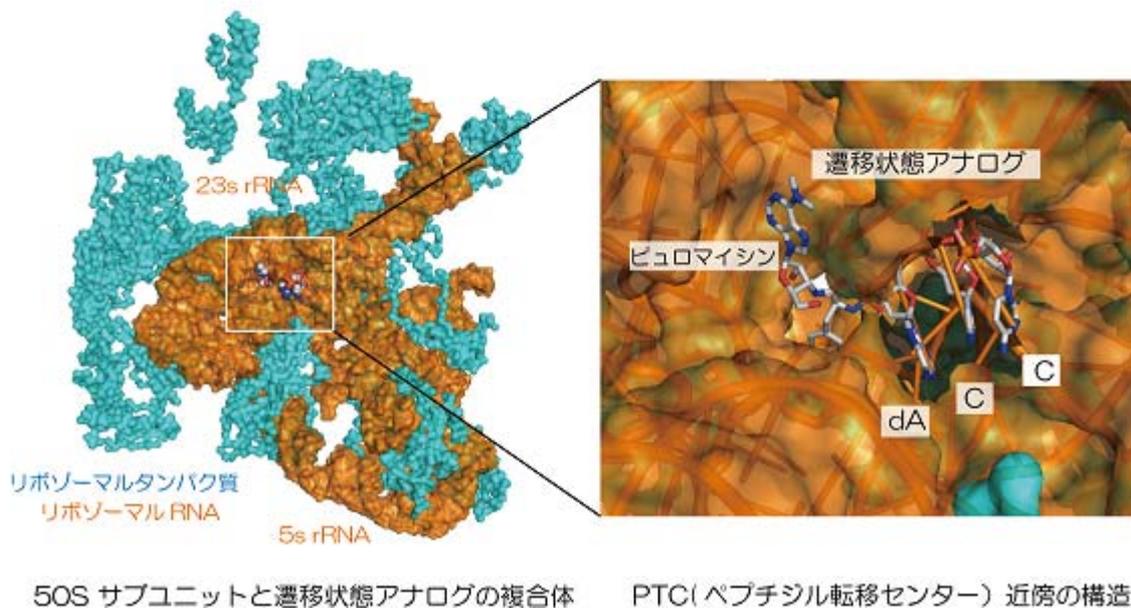
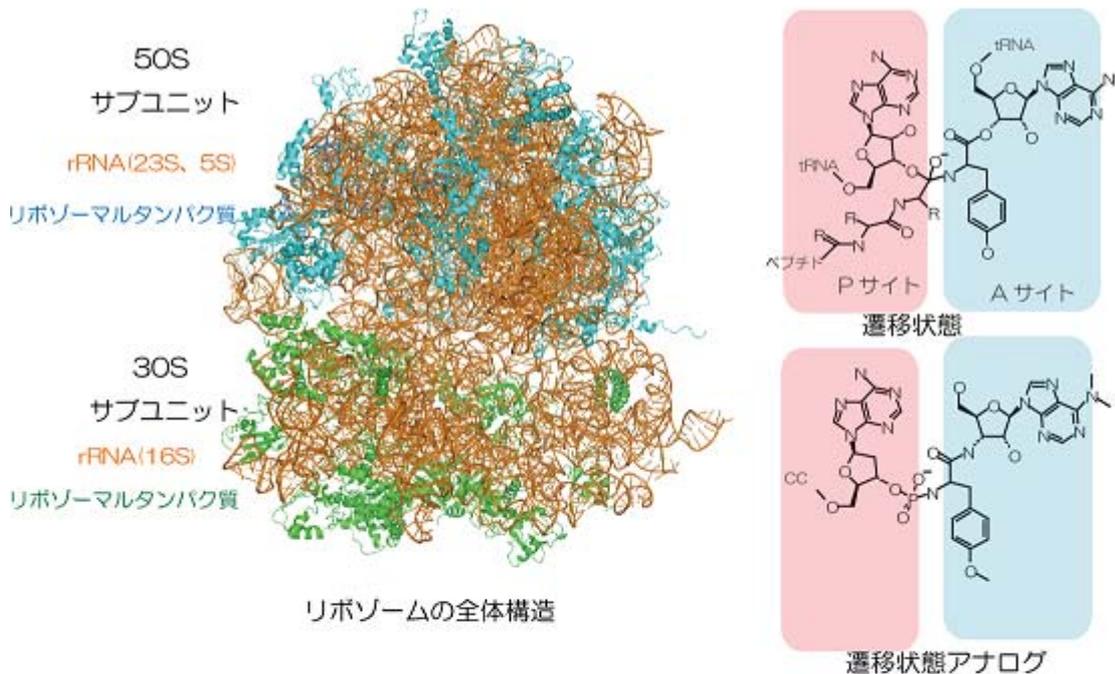


図 15 リボゾームの原子レベルでの構造

ペプチド結合反応の遷移状態を表したアナログ（類似体）化合物とリボゾーム 50S サブユニットとの複合体の構造解析から、リボゾーム大サブユニットのペプチジル転移センター付近にはタンパク質が存在しないことが明らかになった。ペプチド結合反応を rRNA が触媒することが、構造解析からも強く示唆された。

なお、リボザイムを初めて報告したチェック博士らは、試験管内進化法を用いてリボゾーム様のペプチド結合活性をもつリボザイムの創成に成功している。チェック博士らはリボゾーム上の A サイト tRNA、P サイト tRNA に対応させたアミノアシル tRNA、ペプチジル

tRNA に相当するアナログ同士がペプチド結合によって連結されるリボザイムを分離した。そして分離されたリボザイムの 2 次構造中には、23S リボゾーム RNA のドメイン V と呼ばれるペプチジル転移センター内に存在する配列と類似した構造があるという興味深い報告をしている (図 16)。

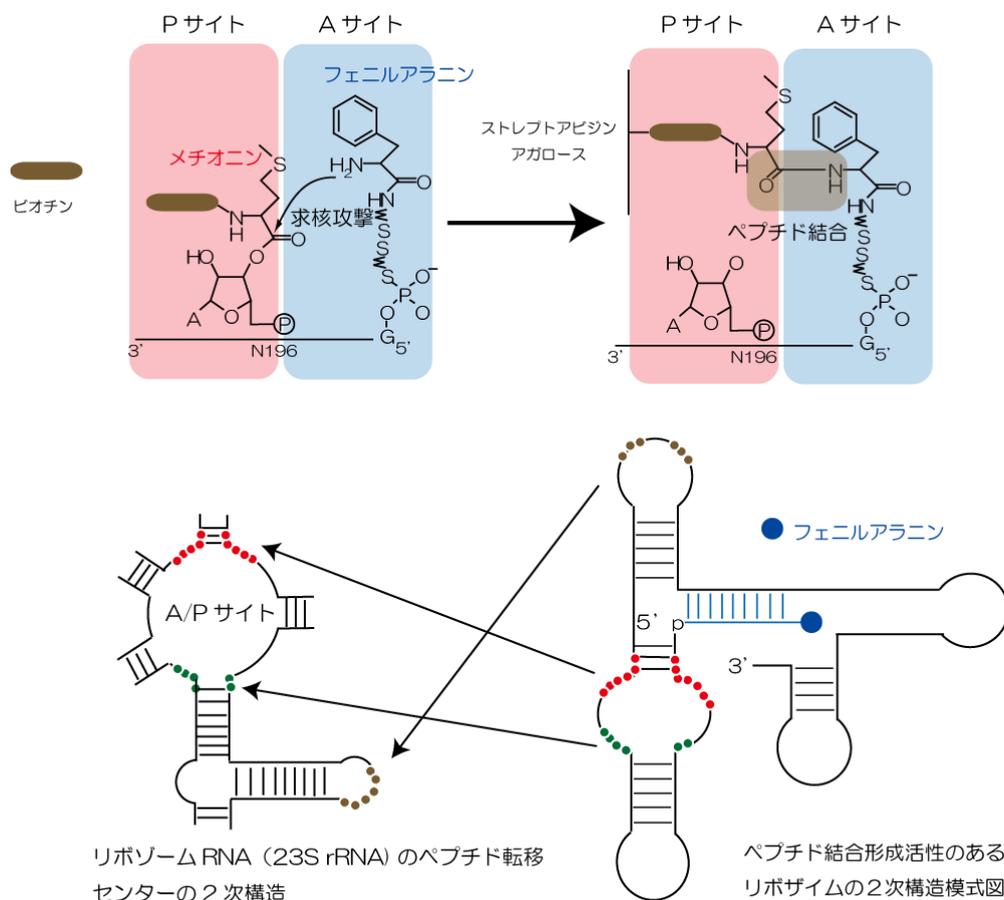


図 16 ペプチド結合を触媒するリボザイムの創成

ペプチド結合を形成するリボザイムでは、アミノ酸の供与、受容部分はそれぞれリボゾーム上でのアミノアシル tRNA (A サイト)、ペプチジル tRNA (P サイト) に相当している。選択された RNA の中には、リボゾームの 23S rRNA のペプチド転移中心領域に似た配列が存在した。

2.6 タンパク質の RNA 分子擬態

さて、これまで RNA の合成、切断、連結活性のあるリボザイム、RNA をアミノアシル化する能力のあるリボザイムなどが単離され、さらにリボゾームがリボザイムであるなどの発見について説明してきた。また太古 RNA ワールドでは、現在ではタンパク質が担う反応

を RNA が担っていたことなども説明してきた。それでは、四種類のヌクレオチドからなる RNA とタンパク質の構造はどれほど似通っているのでしょうか？ 機能に付随して何らかの形で RNA の構造もタンパク質に残されている例が現存しているのではないのでしょうか？ 構造生物学における生体高分子の構造解析技術の進展に伴って、いろいろなタンパク質の構造、タンパク質と RNA との複合体の X 線結晶構造解析が行われ、形を見ることによって RNA とタンパク質の構造比較が行われるようになった。

ニッセン (P. Nissen) 博士とニーボ (J. Nyborg) 博士らはアミノアシル tRNA と翻訳伸長因子である EF-Tu (アミノアシル tRNA をリボゾーム上へ運ぶタンパク質) (図 17) の複合体構造を X 線結晶構造解析によって決定した。この EF-Tu とアミノアシル tRNA 複合体の全体構造を決定したところ、その全体構造が、先に構造決定されていた別の EF-G と呼ばれる翻訳伸長因子と同じような構造をしていることが明らかになった (図 18)。すなわち、tRNA の構造がタンパク質の一部と非常に似通っていたのである。EF-G の機能は、タンパク質合成において、ペプチジル tRNA の末端についたペプチド鎖がアミノアシル tRNA のアミノ酸へ転移されてペプチド結合反応が進行したあと、次のペプチド合成が進行するために新たなペプチジル tRNA をリボゾーム上で移動させる役割をもっている (図 17)。したがって、EF-G が EF-Tu : アミノアシル tRNA 複合体と似通った構造をとっているということは、今ではその機能から当然だと思われる。しかしながら、EF-Tu とアミノアシル tRNA の複合体が解析されて初めて、私たちはその類似性に気づいたというのが実情である。

翻訳終結因子 RF (release factor) は、タンパク質合成のシグナルである mRNA 上のストップコドンを認識して、ペプチジル tRNA から合成されたペプチドを解離させる。この RF がどのようにして、リボゾーム上の mRNA のストップコドンを認識するかは長年の謎であった。RF とリボゾームの複合体での構造がクライオ電子顕微鏡によって解析され、その結果、やはり RF が tRNA と似た L 字型構造を取っていることが明らかになった (図 18)。また、伊藤耕一博士と中村義一博士らは、RF のタンパク質中の三つの連続したアミノ酸がストップコドン認識に関与していることを発見した。この発見は、三つの連続したアミノ

酸があたかも終止コドンを認識する tRNA のアンチコドンに擬態していることを示し、伊藤と中村らは、RF のこのアミノ酸部分を tRNA のアンチコドンに対応するということで「ペプチドアンチコドン」と命名した。なお、このペプチドアンチコドンは、先に述べた RF の構造においては、tRNA のアンチコドンに相当する部位に位置している。また、tmRNA (transfer-messenger RNA) と呼ばれる RNA がある。この RNA は、途中で切れた mRNA が翻訳されたのち生産される末端欠損の不完全なタンパク質を除去するために必要な RNA である。この tmRNA の一部分と、それに結合する SmpB というタンパク質の複合体では、SmpB が tRNA のアンチコドンステム領域に似通っていることなども構造解析から明らかにされている。

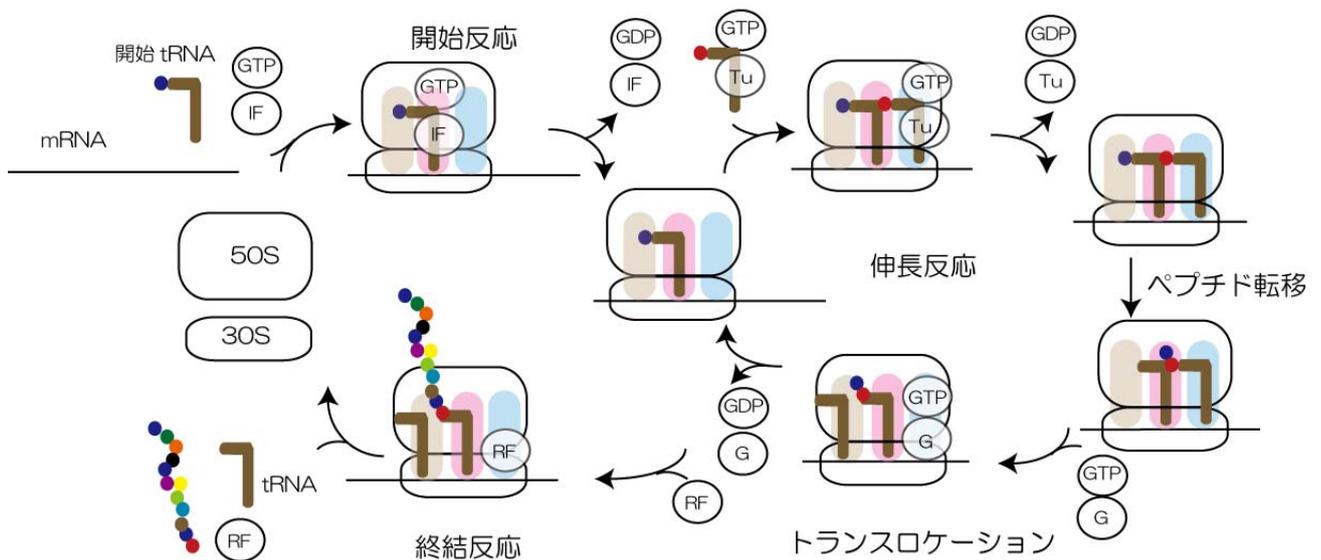


図 17 タンパク質の合成サイクル

IF:開始因子 (Initiation factor)、Tu:伸長因子 (Elongation-factor Tu)、G:伸長因子 (Elongation factor G)、RF:終結因子 (Release factor)。

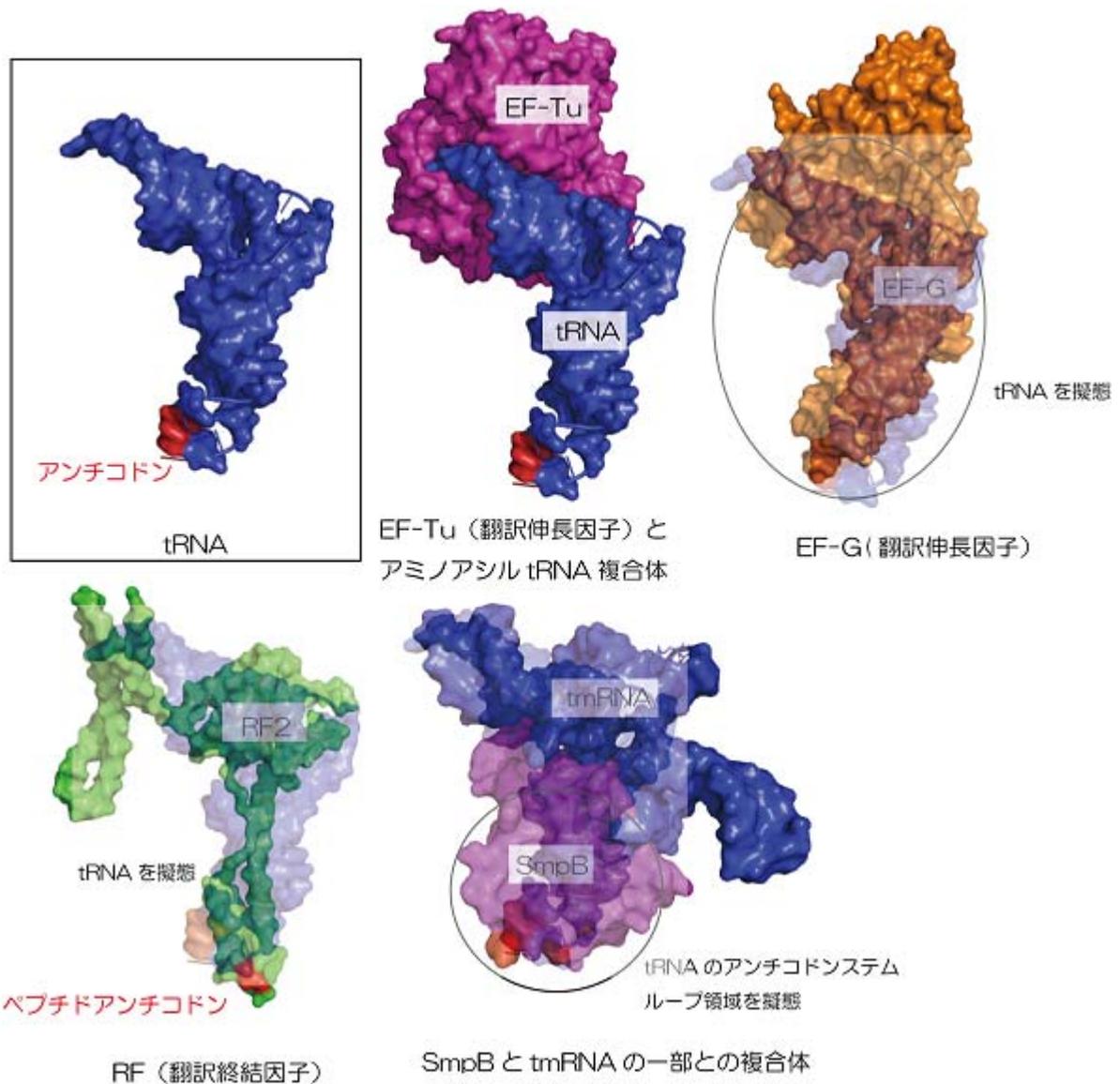


図 18 翻訳因子と RNA の構造の類似

翻訳伸長因子 EF-Tu とアミノアシル tRNA の複合体は、EF-G と構造が似通っており、EF-G の一部が tRNA に相当している。翻訳終結因子 RF は tRNA と構造が似通っている。また、SmpB というタンパク質は tRNA のアンチコドン領域の構造と似通っている。

RNA の形をタンパク質が擬態するまでの過程の分子進化機構についての詳細はいまだにわかっていないが、これらの RNA 構造とタンパク質構造の類似性の発見は、RNA の機能に加えて「形」がどのようにしてタンパク質へ写し取られたかを物語っており、現在のシステムに見いだされる分子化石 (Molecular fossil) と考えることができる。

2.7 RNA の切り貼り—RNA スプライシング—

チェック博士らによるリボザイムの発見にさきだって、RNA の介在領域—イントロンの存在は明らかになっていた。シャープ (P. Sharp) 博士、ロバート (B. Roberts) 博士らは、アデノウイルスと呼ばれるウイルス RNA とその鋳型の DNA とを対合 (annealing: アニールリングと呼ぶ) させ電子顕微鏡で観察すると、DNA 中に RNA と対合できない領域が存在し、一本鎖のループとして観察されることを見いだした。このことから、DNA から RNA へ転写されたあとに、RNA の一部が切り出されていることが明らかになり、この現象をスプライシング (Splicing) と呼ぶようになった。この切り出された部分を介在領域—イントロンと呼び、また、残った部分をエキソンと呼ぶ。イントロンが RNA から切り出されたあと、イントロンの両端のエキソン同士は連結されて、機能する RNA へと成熟化されるのである (図 19)。

その後の細胞核抽出液を用いた解析から、前駆体 mRNA のスプライシングは、アデノシン三リン酸 (ATP) と二価マグネシウムイオンの存在下で 2 段階の反応で進行することがわかった。一段階目にはイントロンの 5' 側の G が、イントロン中の A のリボース 2 位の水酸基と 5' -2' リン酸ジエステル結合を形成し、投げ縄のような形のラリアート構造をとる (イントロン中のこの A の位置をブランチ—枝分かれ—部位と呼ぶ)。二段階目の反応では、5' 側のエキソンの 3' 側ヌクレオシドのリボース 3 位の水酸基がイントロンと下流のエキソンの間のリン酸結合を攻撃して、ラリアート構造のイントロンが切り出されエキソン同士が連結される (図中の P はリン酸基を表す)。

mRNA のスプライシングはタンパク質と RNA から構成される巨大な複合体 (スプライソゾーム) によって行われる。スプライソゾーム中には snRNA (small nuclear RNA: 核内低分子 RNA) と呼ばれる 4 種類の RNA と 50 種類以上のタンパク質が含まれる。snRNA はスプライシングの反応に必要であり、これらの RNA は前駆体 RNA の特定の位置と塩基対を形成することによって、ブランチ部位の認識、スプライシングを受ける部位の認識等に関与していることが明らかになっている (図 19)。なお、前駆体 mRNA のスプライシングについては、

スプライスゾーム中のタンパク質が活性を有しており、前述のグループ I イントロンのセルフスプライシングとは異なっている。

イントロンは転写されたばかりの前駆体 mRNA だけでなく、tRNA にも見いだされた。しかしながら、その分子機構は mRNA の場合とは異なり、すべてタンパク質のみで反応が進行することも、その後の研究で明らかにされている。スプライシングの発見は、DNA 上の遺伝子は連続ではないという概念を生み出し、また、RNA の塩基配列は、その鋳型の DNA のそれを正確に反映しているわけではないことが明らかになった。

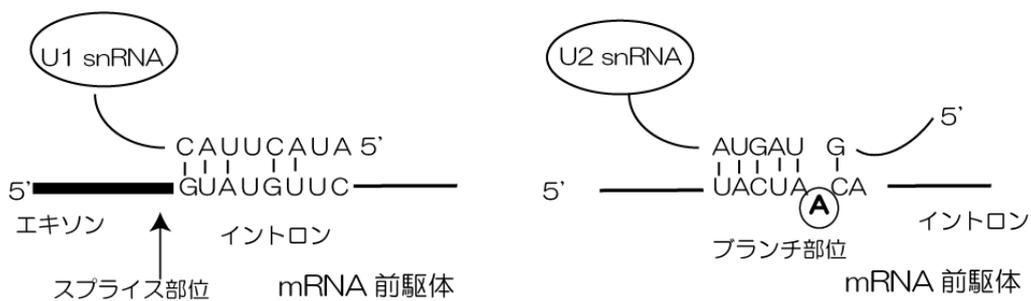
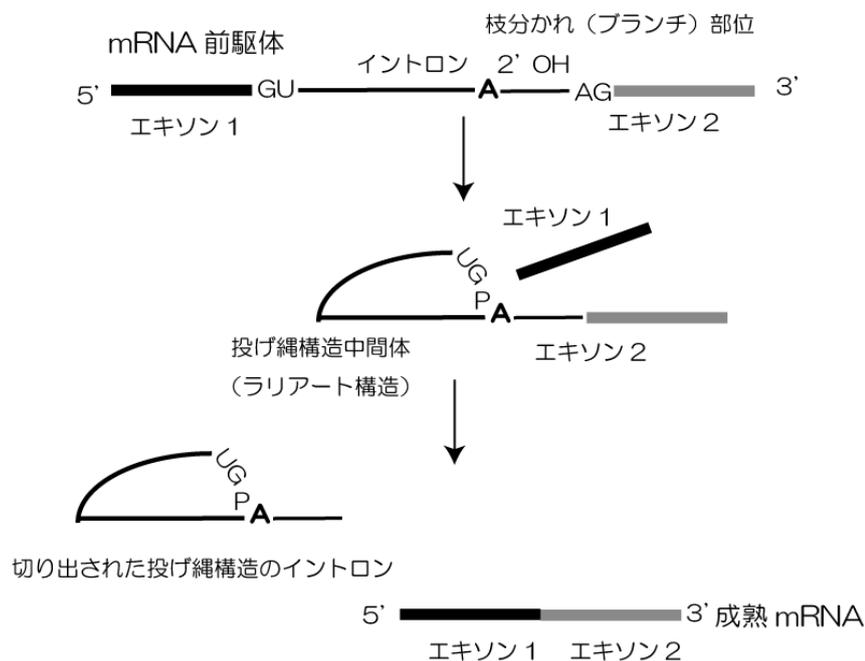


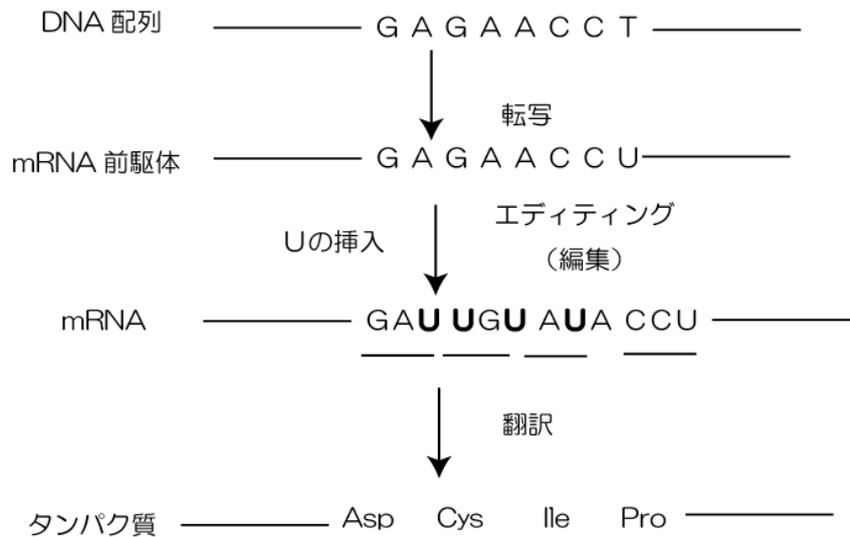
図 19 RNA スプライシング

mRNA 前駆体からイントロンが切り出されて、エキソン同士が連結される。スプライシングを行うスプライスゾームは RNA (snRNA) とタンパク質からなる巨大な複合体である。snRNA はエキソン-イントロンの境界の認識、枝分かれ部位 (ブランチ部位) の認識等に関与している。

2.8 RNA 配列の編集と修飾

古典的なセントラルドグマでは RNA は DNA の単純なコピーであるので、一般に DNA の配列が明らかであれば RNA の配列も一通りに決まる。しかしながら、RNA の配列がその鋳型となる DNA のそれとは異なり、基となる DNA 上の遺伝情報が変えられてしまう奇妙な現象が 1980 年後半から発見されてきた。DNA から RNA へ転写されたあと、mRNA へのヌクレオチドの挿入、削除、置換などが生じ、初めて機能するタンパク質へ翻訳される mRNA ができるという現象が発見された。これらは、それまで知られていた mRNA の 5' 末端へのキャップの付加、3' 末端へのオリゴ A の付加（ポリアデニル化と呼ぶ）、RNA のスプライシングとは全く性格が異なるものであり、一般に RNA の編集（RNA エディティング）と呼ばれている。

アメリカのシンプソン (L. Simpson) 博士らは、鞭毛虫類であるトリパノゾーマのキネトプラスト(特殊化したミトコンドリア)の mRNA の配列を解析(実際には逆転写反応を行ってできる cDNA の配列:c は相補的という意味)したところ、鋳型となるキネトプラスト DNA 上には、その mRNA の配列を見つけることができなかった。mRNA のもととなる配列が鋳型である DNA 上に見いだせなかったのである。最終的に、DNA から RNA へ転写されたあとに mRNA のいたるところに U が挿入されたり、U が削除されたりしているといった驚くべき事実が明らかになった (図 20)。たとえば、トリパノゾーマのキネトプラストのシトクロムオキシダーゼサブユニット III の mRNA では、その配列のおよそ 60%がこのような U の挿入や欠失の RNA 編集を受けて、翻訳されうる一すなわち生理的に意味のある mRNA になっている。



トリパノゾーマのCOXII 遺伝子のU挿入のRNA編集

図 20 RNA エディティング

DNA から mRNA へと転写された後、ヌクレオシドの挿入、削除、あるいは置換などが生じることがある。その結果、DNA 配列から予想される遺伝子のアミノ酸配列と実際の配列が異なるという現象が生じる。

原生動物の一種であるトリパノゾーマに見られるヌクレオチドの挿入や欠失以外のタイプの RNA エディティングの現象も、その後いろいろな生物で発見されてきた。動物細胞のアポリポタンパク質やグルタミン酸受容体の mRNA では、それぞれ C から U への塩基置換、A から I (inosine:イノシン) への塩基の置換が起きている。その他、植物のミトコンドリアやクロロプラスト (葉緑体) の多くの mRNA では C から U への塩基の置換が起きている。いずれの場合にも mRNA から予測されるタンパク質のアミノ酸配列は、その鋳型である DNA から予測されるものとは異なることになる。したがって、実際にタンパク質へと翻訳される mRNA の配列 (mRNA に相補的な DNA : cDNA 配列) をきちんと解析する必要があることが明らかになってきた。

このような RNA の編集の例は、タンパク質をコードする RNA、すなわち mRNA だけに見られる現象ではない(図 21)。実は、すでに古くから tRNA において見いだされていた。ある種の tRNA のアンチコドンと呼ばれる mRNA のコドンとリボソーム上で対合する部分の一文

字目に I (イノシン) が見いだされる。この tRNA のアンチコドン一文字目は DNA 上では A であり、RNA へと転写されたあと、修飾を受けていることが明らかになった。この A から I への修飾によって、この tRNA が 3 文字目が U だけでなく U、C、A で終わるコドンと対合できるようになる。

また、tRNA のアンチコドンの 2 文字目の C が U へエディティングを受けることによって、その tRNA が別のアミノ酸 (グリシンからアスパラギン酸) を末端に付加するようになり、かつ異なった遺伝暗号 (GCC/GCU コドンから GAC/GAU コドン) を解読するようになる例もオポッサムと呼ばれる動物 (有袋類の一種) のミトコンドリアにおいて発見された。このような例も、エディティングが発見される以前に tRNA において見出されており、tRNA のアンチコドン 1 文字目の C が修飾を受けてライシジン (Lysidine) という修飾塩基に変化すると、その tRNA は異なったアミノ酸を末端に付加されるようになり (メチオニンからイソロイシン)、かつ異なった遺伝暗号を解読 (AUG コドンから AUA コドン) するようになる。

したがって、RNA の転写後の修飾を含めた RNA エディティングという現象は、数少ない種類の RNA で多様な働きをする—RNA の機能を拡張する—ために必要であったと考えられる。また、遺伝暗号の成立および変化の分子進化を考える上で大変興味深い現象である。

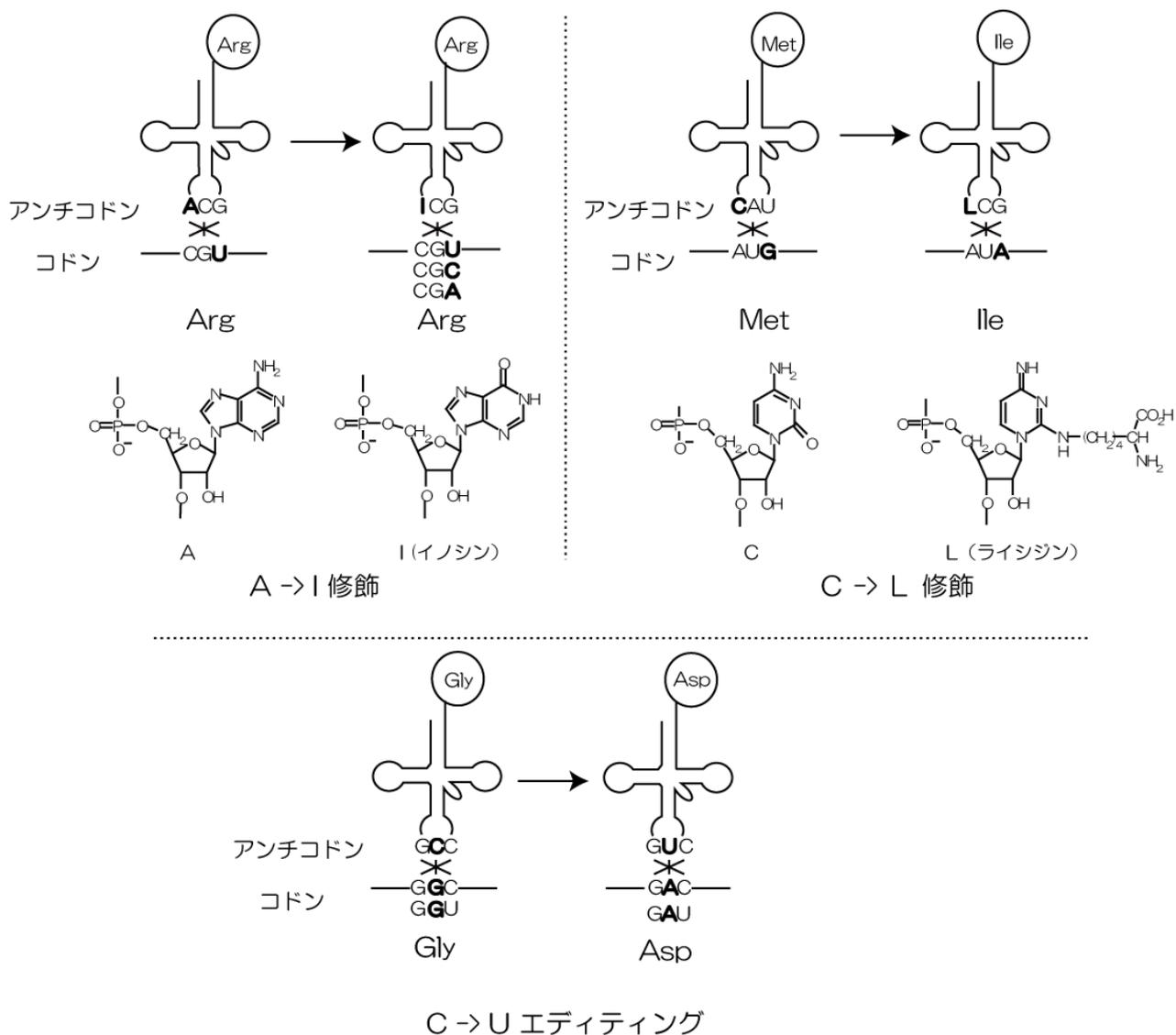


図 21 tRNA におけるエディティングと修飾

tRNA のアンチコドンにおけるエディティングや修飾によって、遺伝暗号解読機能が拡張したり、末端に付加されるアミノ酸が変わってしまったり、解読する遺伝暗号が変化する例が存在する。

2.9 新たな機能性 RNA

1990 年代には、遺伝子の発現のスイッチオフ、すなわち抑制に、二本鎖が切断されて生成される小さな RNA (20~22 塩基長) 分子が関与しているといった驚くべき現象が発見された。この小さな RNA による遺伝子発現のスイッチオフ現象は RNA による遺伝子発現の干渉という意味で RNA 干渉 (RNA interference: RNAi) と呼ばれており、ファイヤー (A. Fire) 博士、メロー (C. Mello) 博士らによって発見された。

RNAi では、細胞に導入した二重鎖 RNA が長さ 20~22 塩基長の二重鎖 RNA (siRNA: short interfering RNA と呼ぶ) へと切断を受け、その二重鎖の片方が、その配列と相補的な mRNA などに結合し、その mRNA を切断して遺伝子発現を抑制することが明らかにされている (図 22)。

また、microRNA (miRNA) と名付けられた、遺伝子の発現を抑制する作用のある小さな RNA が発見された。この miRNA も長さが 20~28 塩基長であり、この miRNA と相補的な (完全に相補的ではなくてもいい) mRNA と結合し、その mRNA が翻訳されるのを阻害して、遺伝子発現を抑制することも明らかにされた。また、miRNA が染色体に作用して遺伝子の発現量 (転写量) を制御していることも発見された。このような経緯から、生体内の新たな RNA 種についての研究が加速されている。

ヒトのゲノムの塩基配列が二十一世紀初頭に完全に解読され、ヒトゲノムのサイズは約三億塩基対であることがわかったが、驚くべきことにゲノムのうち遺伝子 (古典的な RNA (tRNA や rRNA など) やタンパク質をコードするもの) の数は三万程度であり、他の生物と比較してもその数が決して多くはないことがわかっている。一方、転写産物解析やゲノム上の転写開始点などの網羅的解析から、転写される RNA の 90%以上がタンパク質へと翻訳される明確なフレームを有さないことも明らかになった。これらを、古典的なセントラルドグマにおける RNA 種を含め総じて non-coding RNA (ncRNA) と呼ぶようになっている。

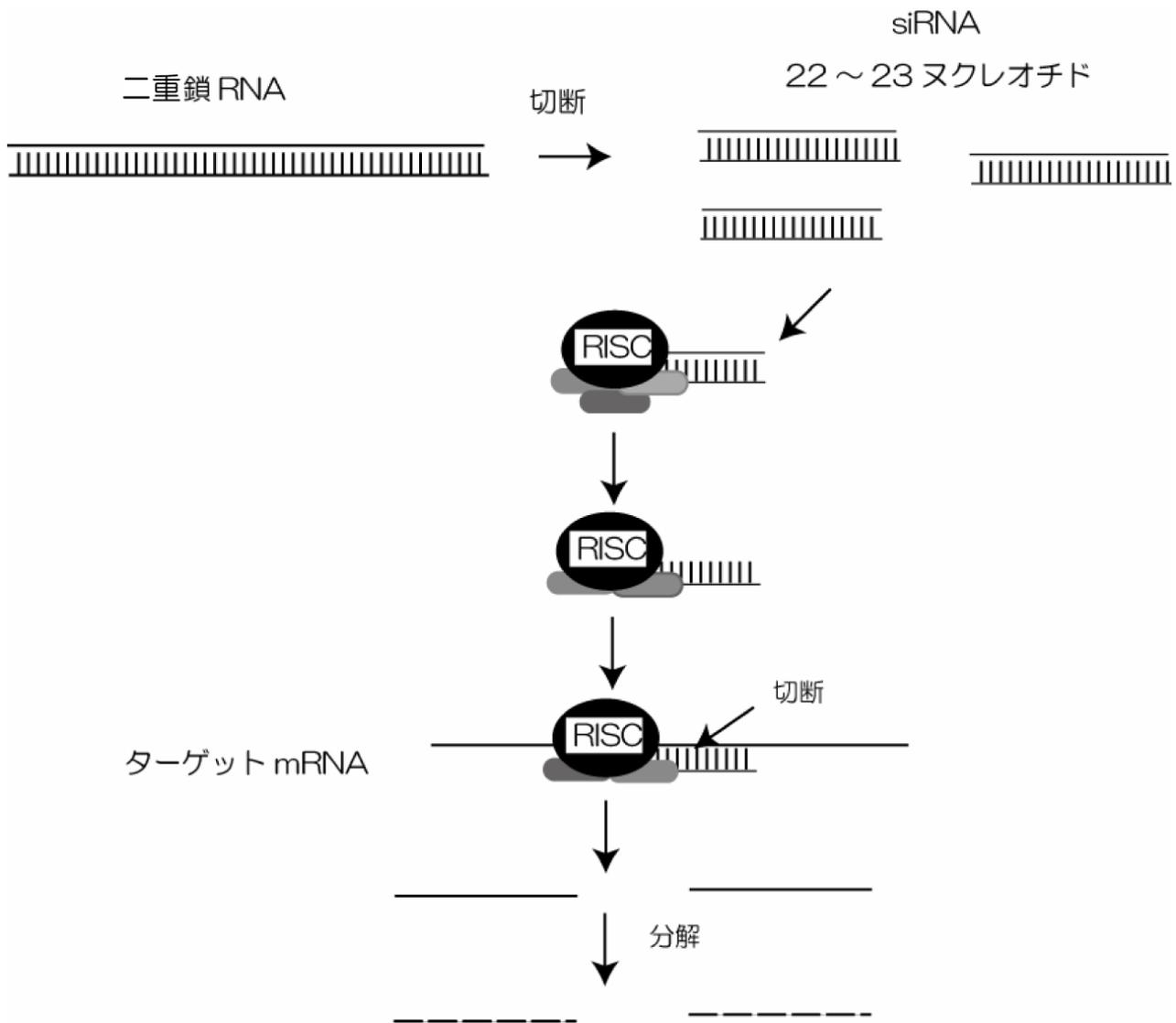


図 22 RNA 干渉

二重鎖 RNA が切断されて 20~22 塩基長の二重鎖 RNA ができる。このうち、RISC (RNA-induced silencing complex) と呼ばれる複合体の作用により、一方の RNA 鎖が mRNA へと対合する。その後その mRNA が切断、分解され、遺伝子発現の抑制が起きる。

最近まで、遺伝子をコードしないゲノム DNA の領域はゲノム中のジャンク（ゴミ）と考えられていた。また、それらの転写産物も同じくジャンクであると考えられてきた。しかしながら、RNAi 現象の発見、miRNA の発見、そして ncRNA が遺伝子の発現制御に積極的に関与していることが次々に報告され、ゲノム DNA のタンパク質をコードしない領域はジャンクではなく、機能が明らかにされていない non-coding RNA が潜んでいる可能性のある領域であることが明らかになってきている。

これらの新たな RNA 種および RNA 機能の発見を機に、生体内のタンパク質をコードしない未知の RNA の探索、またそれらの機能解析が世界中で精力的に行われるようになった。現在までに報告されている翻訳されない RNA は、まだ氷山の一角にすぎず、今後、翻訳されない RNA が中心的な役割をはたす遺伝子発現制御機構が明らかになると考えられる。また、これらの RNA が関与する種々の遺伝子発現制御を積極的に利用して、生体内での遺伝子発現を制御し、医療への応用を行う試みも始まっている。

2.10 終わりに—RNA の潜在能力—

本章では、セントラルドグマが提唱されたあとの、RNA の酵素としての性質、進化、そして RNA の加工によるその機能拡張、また、ごく最近の ncRNA の発見とその遺伝子制御における能力について説明してきた。これらの、RNA における潜在的能力の発揮は、RNA 自身のもつ性質によると考えられている。RNA は一般に一本鎖であり、それゆえ相補的な鎖と強い塩基対を形成できる。RNA 分子内での相補的な塩基対合の場合には、RNA 分子は単なる一本の鎖ではなく、きちんとした三次元構造を形成することが可能になる。また RNA の場合、マグネシウムイオンなどの二価のイオンが RNA の背骨のリン酸基に配位することによって、その二価イオンの働きによってリボース部分の 2 位に存在する水酸基の酸素原子の反応性が高まることも知られている。このような、RNA 自身が構造をとりうるということと、化学的な反応性が高いといった両方の性質があいまって、RNA が酵素としての機能を発揮していると考えられる。また、RNA が分子間で DNA や RNA と塩基対を形成する場合、それらの対合が DNA-DNA の対合よりも安定であることが知られている。このため、RNA が別の RNA や DNA と塩基対を形成することによって、DNA から RNA への転写を RNA が制御したり、RNA の翻訳を制御したりすることが可能になっている。RNA はリボースの 2 位に水酸基をもつため、化学的に反応性が高いことは、同時に RNA が分解されやすいということの意味している。したがって、遺伝子発現のスイッチのオン—オフに RNA を用いることは、生命が周囲の環境に応じて早急な対応をすることを可能にしている。また、RNA は染色体

に収められている DNA とは異なり、転写後に自由に細胞内を動き回ることができ、この可動性も RNA が機能的な分子として働くために重要な要素であると考えられている。

クリック博士によってセントラルドグマが提唱されてから既に 50 年近くの歳月が経過した。当初脇役であった RNA 分子が、いまでは多種多様な潜在能力をもつ機能性分子であり、生命現象、生命の起源を理解する上で、主役としての立場を確立しつつある。今後、私たちが予想もつかなかった RNA に関する新たな現象の発見も期待される。本章により、少しでも RNA の研究に若い読者が興味を持ち、将来の RNA 研究の新しいパラダイムへ参加していただけることを期待したいと思う。

なお、本稿の記載に関して、詳しい内容は以下の総説等を参照にいただければ幸いである。

(1) 富田耕造、沼田倫征：「入門 構造生物学」－放射光 X 線と中性子で最新の生命現象を読み解く－4 章 生命現象の理解に迫る構造生物学研究 4.3 翻訳 p111-p119 共立出版 2010

(2) 志村令郎、渡邊公綱 共編：RNA 研究の最前線 シュプリンガー ジャパン 2000

駒場の学生であった当時、(今から20年以上も前だが) 漠然と、将来分子生物学を専門とした研究を行いたいと考えていた。これは、駒場のときに読んだ利根川進博士と立花隆氏の対談形式の著書である「精神と物質」に感銘をうけたからだと考えている。ただ、駒場での教養の成績が悪かった私は、本郷の理学部の生物系専攻へ進学するには「進学振り分け」の点数があまりにも低かったため、生物系の研究を行っている研究室がわずかにあった工学部の工業化学科へ進学した(せざるを得なかったわけだ)。



著者近影

4回生の時、卒業研究の配属先研究室として、渡辺公綱教授研究室を選んだ。当時の渡辺研究室では、tRNA、アミノアシル tRNA 合成酵素、リボゾーム、遺伝暗号の進化など、タンパク質合成系の研究を中心に行っていた。工学部には珍しく、生物化学の純粋な基礎的な研究を行っており、隣の研究室では超伝導の研究を行っていた。

渡辺研究室には、30人以上の学生が在籍しており、先輩たちが夜遅くまで研究室で実験をし、非常に活気があったのを覚えている。そんな先輩たちの姿をみて、それに引きずられるように、私も夜遅くまで研究室にいたと思う(到底、生産的であったとはいえない状況だったが)。

渡辺研究室では、4回生の時には「植物ミトコンドリアのRNA エディティングの分子機構」というテーマを卒研テーマとして選んだ。研究室に入って初めて、RNA エディティングという現象について知ったのだが、「セントラルドグマに従わないこんな面白い現象があるんだ」と非常に興味をそそられたのを今でも鮮明に覚えている。卒研では無謀にも植物ミトコンドリアにみられるCからUへのRNA エディティングの *in vitro* (試験管内) のアッセイ系を構築することを目的とした。しかし、2年間以上、大学院の修士1年目の終わ

りごろまで、植物ミトコンドリアの抽出液を用いたアッセイ系を構築することはできなかつた。ただ、いろいろとアッセイをして、全ての結果がネガティブであっても (in vitro でエディティングを観察することができなかつた)、実験を続けていたのは不思議なものだ。研究室の片隅で、ダンボールでおおったトレイで小麦を栽培していたのが懐かしい。

博士課程へ進学することを決めていた私に、学生に自由に実験を行わせていた寛大な渡辺先生もさすがに心配になったのだろうか。ある日、私の実験台のところにやってきて、「いつまで続けるんだい？もう、飽きたかい？」。そこで、動物ミトコンドリアの変則遺伝暗号の解読機構に関する研究に、研究テーマを変えることになった。

ミトコンドリアにおいて変則遺伝暗号を用いているハエ、ヒトデ、イカなどから、変則遺伝暗号解読に関わっているミトコンドリア tRNA を単離精製して、その修飾塩基を含めた配列を決定し、暗号解読機構を解明しようというものだった。その過程で、博士課程2年目に、ヒトデのミトコンドリアにおいてAAAコドンのリジンではなくアスパラギンへ指定する tRNA のアンチコドンが GΨUであることを発見した (Ψ, Pseudouridine: シュードゥリジン、U の誘導体)。それまで、長年、アンチコドン1文字目のGが修飾を受けているであろうと予測されていたのだが、アンチコドン1文字目ではなく意外にも2文字目がΨへと修飾を受けていたのだ。RI室の暗室でTLCのフィルムを現像し、Ψのスポットがあるのを見たときの驚きは今でも忘れることができない。すぐに、研究室に戻り、文献検索から、植物の細胞質アンバーサプレッサー-tRNA のアンチコドン2文字目のUがΨへ修飾されていることが報告されていることがわかった。「センスコドンであるAAAコドンがアスパラギンへと翻訳される(遺伝暗号が変化した)最も確からしい新たな分子機構がわかった」と、その日の夜は興奮して眠れなかつたのを今でも鮮明に覚えている。これは、私自身にとって、生まれて初めての、「科学的な発見」の体験となった。その後、実際に2文字目のΨがAAAコドン認識に関わっているということを、大腸菌の翻訳システムを用いた in vitro の翻訳系で実証することができた。この成果は、結局博士論文の要となった。

博士取得後、7年の間、農学部の正木春彦先生の研究室、フランス・ストラスブール CNRS

の IBMP の Weil 教授、Marechal-Drouard 博士の研究室、アメリカ・エール大学、ワシントン大学の Weiner 教授の研究室で博士研究員として tRNA のプロセッシング等に関連した研究を行ってきた。正木春彦先生の研究室では、大腸菌の生産するプラスミドにコードされている細胞障害性を示すコリシン D の作用機構について研究をさせていただいた。当時、その作用機構は明らかにされていなかった。実験を始めてほどなくして、コリシン D が細胞質内の特定の RNA を切断していることを見だし、その RNA の Donis-Keller 法による解析から、その RNA がアルギニンの tRNA であることがわかった。いまでも、Donis-Keller のラダーを読み進めて、その配列がアルギニン tRNA のそれであることが判明したときの興奮は忘れることがない。その後、生化学的な試験管内の解析から、コリシン D がアルギニン tRNA を特異的に切断する RNA 分解酵素であることを示し、さらに、遺伝学的な手法を用いてコリシン D の細胞障害性とコリシン D のアルギニン tRNA 切断活性に相関があることを明らかにすることができた。正木先生の研究室には、フランスへ留学するまでの 6 ヶ月ほどしかお世話にならなかったが、その間にコリシン D の細胞障害性の分子機構を解明できたのは非常に幸運であった。9 月の半ばにはフランスの方へ留学することになっていたため、夢中になって、ほとんど休むことなく実験をしていた記憶がある。8 月は、1 週間のうち家に帰って寝るのは半分くらいであった。なお、正木先生の研究室で研究をさせていただいたことが、その後、私が研究者としてやっていく自信となったと考えている。また、生化学的な解析だけでなく、遺伝学的な手法を相補的に用いることが大切であることを実感した。

アメリカの Weiner 教授の研究室では tRNA の末端の CCA 配列を合成する酵素の研究をおこなわせていただいた。そのころ、多くの細菌のゲノム配列が次々と決定されつつある時期であった。CCA 付加酵素相同遺伝子検索から、いくつかの進化的に古い細菌ゲノムには CCA 付加酵素と考えられる遺伝子が 2 つあることに気づいた。最初は、一つは CCA 付加酵素で、もう一つはポリ A 付加酵素であろうと考えていた。しかし、それぞれの蛋白質の生化学的な解析から、一つは CC、もう一つは A を tRNA の末端に付加するという結果がでた。

その結果が信じられず、何度実験をしてみても、同じ結果だった。これは、その細菌では CCA 付加酵素活性が二つの酵素へ分断されてしまっている可能性を示唆した。その当時、CCA 付加酵素は一つのポリペプチドからなり、その一つの酵素で tRNA の末端に CCA 配列を合成付加する、というのが当たり前だった。ある朝、ゲルのオートラフィルムを前に「何か変なことが起きている、この細菌では CCA 付加酵素活性が二つに分断されているようだ」と Weiner 教授に報告した。彼はその結果の意味することにすぐ気づき、あきらかに驚いているようであった。そして、「このことはラボ内だけにとどめておこう」といって自分の部屋に戻って行った。その後、生化学的な解析だけでなく、CCA 付加酵素を欠損した大腸菌を用い、アンバーサプレッサー tRNA の修復を指標にした遺伝学的なシステムを用いて、in vivo でも CCA 付加酵素活性がその細菌由来の CC 付加酵素と A 付加酵素で再構築されることを実証し、また、他の細菌でも同じようなことが起きていることを示した。この時も、一つの課題に対して多角的に研究を進めることが、他の研究者を説得させるために必要であると実感した。

現在所属する研究機関で自分の研究グループを持つようになってからも RNA に関連する研究を続けている。今になって振り返ってみると、最初に研究指導を受けた環境の印象が、非常に後々まで、自分自身の研究グループの研究テーマや研究スタイルへ影響を与えていると強く感じることもある。実際、現在やりたいと思っている（やっている）ことの中には、学生のとて興味を覚えたものが含まれているし、また、研究の進め方も、学生のとてに影響を受けた渡辺先生を初め、渡辺研究室の尊敬する先輩たちのそれと似通っていると感じることがある。

今後、これまで研究指導をしてくださった諸先生方や先輩方々の優れた点を踏襲しつつ、さらに自分の研究に対する自分自身の哲学・フィロソフィーがにじみ出てくるような研究を続けていけたらと考えている。

著者紹介

氏名：富田 耕造 (とみた こうぞう)

1969年 生まれ

学歴及び職歴：

1993年 東京大学工学部工業化学科卒業

1998年 東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻博士課程修了

1998年 東京大学大学院農学系研究科 協同博士研究員

1998年 IBMP du CNRS (ストラスブール、仏) 博士研究員

1999年 Yale 大学医学部 (ニューヘーブン、米) 博士研究員

2000年 Washington 大学医学部 (シアトル、米) 上級博士研究員

2002年 東京大学大学院新領域創成科学研究科 科学技術振興特任研究員

2003年 東京大学大学院新領域創成科学研究科助手

2004年 産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門 任期付研究員

2005年 産業技術総合研究所生物機能工学研究部門研究グループ長

2006年～ 東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカルゲノム専攻
生命機能分子工学分野連携講座准教授兼任

2007年～2010年 科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業個人型研究さきがけ研究
員 (兼務)

2009年 産業技術総合研究所生物機能工学研究部門主任研究員

2010年 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門RNAプロセッシング研
究グループ長、主任研究員

受賞歴：

2007年 つくば奨励賞 研究部門 (茨城県科学技術振興財団)

2008 年 日本分子生物学会三菱化学奨励賞（日本分子生物学会）
2010 年 文部科学大臣表彰 科学技術賞 研究部門（文部科学省）