

## ナノ古細菌の tRNA は不思議がいっぱいナノだ

最小の古細菌 *Nanoarchaeum equitans* は寄生性で、他の古細菌 *Ignicoccus hospitalis* の表面に付着して増殖する。同時に *N.equitans* はゲノムが読まれた当時最小のゲノムを持つ生物であった。ゲノム配列が完全に解読された時点においても特定の遺伝子が見つからない時には2通りの可能性がある。一つは実際に存在しない場合。もう一つは存在するのだが知られているものとは大きく異なった特徴を持っている場合である。ここでは、あるべき遺伝子が見つからないことに端を発し、全く逆の結論へたどり着いた2つの研究を紹介しよう。

*N.equitans* ゲノム解読当初の解析では4種類の tRNA 遺伝子が見つからなかった。グルタミン酸、ヒスチジン、トリプトファン、そして開始メチオニンの tRNA 遺伝子である。Randau らはコンピュータ解析によってこれら4つの tRNA をコードする配列を発見することに成功した (Randau et al. 2005)。彼らは既知の tRNA の情報を利用して tRNA を2つの領域に分けて探索した。1つは T-loop と acceptor stem の3'側の配列、もう1つは D-stem と acceptor stem の5'側の配列である。これにより、tRNA の5'側が5つ、3'側が4つ見つかり、合わせると見つかっていなかった4種類のアミノ酸に対応する tRNA になることがわかった。面白いことに、グルタミン酸の2つのコドン GAG と GAA にそれぞれ対応する tRNA<sup>Glu</sup>(CUC)と tRNA<sup>Glu</sup>(UUC)は3'側の tRNA 断片を共有していた。遺伝子の分断化によってコード領域の長さを減らすことができるという実例である。この2つではアンチコドンの1塩基しか違いが無い。これら9種の tRNA 断片遺伝子はいずれも上流に古細菌 Box A プロモータを持っていた。そして、対応する5'側と3'側の tRNA では、5'側の断片の転写産物の3'側には、3'側の断片の5'側に相補的な配列が含まれていた。この配列がアニールすることでそれぞれの相方を見つけていると考えられる。加えて、断片の切断位置は tRNA のイントロンが頻繁に挿入されている位置に対応していた。これらのことから、この4種類のアミノ酸に対応する5種類の tRNA は相補的な配列を介して結合し、trans splicing によって接続されて形成されるものと考えられた。

RT-PCR によって全長の tRNA<sup>Glu</sup>(UUC)、tRNA<sup>Glu</sup>(CUC)、tRNA<sup>Met</sup> の存在が確認できた。すなわちこれら3種の tRNA は trans splicing によって形成されている。他の2つは強固な二次構造を持つ為か全長は得られなかったが、tRNA<sup>Trp</sup> の5'側以外は転写を確認することができた。tRNA を環状化することで5'と3'の末端を決定すると、3'末端には正しく CCA が付加されていること、5'側も他の古細菌と同じ位置で終わっていることが明らかとなった。著者らは最後に、これら tRNA に炭素の放射性同位体 <sup>14</sup>C でラベルしたアミノ酸と、ヒスチジル tRNA 合

成酵素・グルタミル tRNA 合成酵素を混ぜる実験を行い、tRNA に正しくアミノ酸が付加されることを確認している。

このように 5 種類の tRNA は、普通とは異なる形で *N.equitans* のゲノム中にコードされていることが明らかとなった。「バルジ大作戦：tRNA splicing」では、環状化して順序の入れ替わる tRNA を紹介したが、それとはまた異なる進化を *N.equitans* の tRNA はしてきたことになる。

ところで、*N.equitans* の tRNA に関してはもう 1 つ重要な遺伝子が見つかっていなかった。それは、全ての生物に保存されている RNase P である。RNase P は 1 個から 10 個のタンパク質と 1 個の RNA 分子から構成される RNP であり、tRNA の 5' 側の余分な配列を切断して正しい 5' 末端を形成する働きを担っている。切断活性は RNA 分子側にあることが報告されているので、RNA ワールドの遺物のリボザイムと考えられている。*N.equitans* のゲノム配列からはこの RNase P の遺伝子が見つかっていなかった。

Randau らはまず、*N.equitans* の RNase P の活性を確認する為に、*N.equitans* の tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup> 前駆体の 5' 末端をリンの放射性同位体 <sup>32</sup>P でラベルし、RNase P による切断の活性を調べた (Randau et al. 2008)。大腸菌の RNase P を加えると確かに 5' 末端 15 塩基が切断されたのに対して、*N.equitans* の細胞抽出液を加えた場合には切断がみられなかった。もちろん著者らは pH や塩濃度などを様々に変化させているが、どの条件でも RNase P の活性は確認できなかった。RNase P の活性は tRNA の成熟に必須とされる。それでは、*N.equitans* はどのようにして tRNA を成熟させているのだろうか？

著者らは tRNA の転写が正確に、成熟 tRNA の 5' 末端から開始されている可能性を検討した。調べるとプロモータが成熟 tRNA の上流ちょうど 26 塩基に位置していることがわかった。ただし 3 つだけ例外があり、tRNA<sup>His</sup>、tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>、tRNA<sup>Tyr</sup> では G または A が成熟 tRNA の 5' 側に 1 塩基だけ挿入されていた。前述の論文と同じように環状化によって tRNA の 5' 末端を決定すると、tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup> と tRNA<sup>Tyr</sup> では確かに G または A が余分に tRNA の 5' 末端に存在していた。また、少なくとも tRNA<sup>Tyr</sup> の余分な G は tRNA のアミノアシル化 (アミノ酸の付加) に必須であった。

tRNA が RNase P によって切断された場合、5' 末端には、1 個のリン酸基だけがくっついている。一方、転写されたままの場合には 3 個のリン酸基が残っている。この違いは、ワクシニアウイルスの capping enzyme が、3 個のリン酸基がある場合にはキャップをつけることができるが、1 個の場合には出来ないという性質を使って区別することが出来る。リン酸基をラベルした GTP を capping enzyme と一緒に *N.equitans* の tRNA に加えるとキャップが付加されたことから、*N.equitans* の tRNA は転写されたままで切断されていないことが確認できた。以

上の結果は、*N.equitans* の tRNA は成熟 tRNA の 5'末端ぴったりの位置から転写され、RNaseP による切断を経ずにアミノアシル化を受けることができることを示している。そしてその正しい転写開始は正確なプロモータの配置によって担われているのだろう。

このように当初見つからなかった tRNA の遺伝子は trans splicing という特殊な方法で結合されることが明らかとなり、その一方で同じく当初見つからなかった RNase P の遺伝子は実際にゲノムにコードされていないことがわかった。その RNase P の機能は、正しい位置からの tRNA の転写によって代替されていた。このような特徴が、*N.equitans* が早くに分岐した古細菌だからなのか、それとも寄生生活に適応して二次的にゲノムを縮小させたためなのかは明らかではない。tRNA が環状化を介して作られる *Cyanidioschyzon merolae* も真核生物としては非常にコンパクトな細胞とコンパクトなゲノムを持っている。ゲノムの単純化と特殊な遺伝子の誕生とは互いに関連があるのかもしれない。

Randau L, Münch R, Hohn MJ, Jahn D, Söll D.

Nanoarchaeum equitans creates functional tRNAs from separate genes for their 5'- and 3'-halves.

Nature. 2005 Feb 3;433(7025):537-41.

Randau L, Schröder I, Söll D.

Life without RNase P.

Nature. 2008 May 1;453(7191):120-3.

2008/06/11

小島 健司 著  
禁 無断複写転載