

## 新規ターゲットに着目した抗菌剤スクリーニング法

—抗菌剤スクリーニングのための定量的な葉酸依存性RNAメチル化酵素活性測定法の開発—

堀 弘幸 教授・大学院理工学研究科物質生命工学応用生物化学



所属学会：日本生化学会、日本分子生物学会、日本RNA学会、モデル生物丸ごと一匹学会、アメリカ生化学・分子生物学会(ASBMB)

研究キーワード：RNA、tRNA、RNA成熟、プロセッシング、RNA修飾、タンパク質合成、メチル基転移

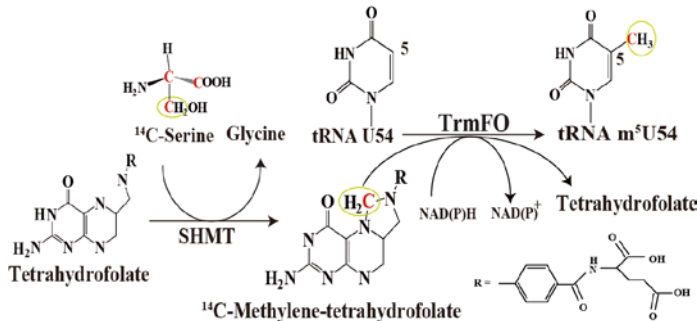
ここがポイント！

TrmFOは新規抗菌剤ターゲットとして注目されています。本研究者はその第一人者で、オリジナル酵素活性測定法を確立するなど国際的にも高い評価を得ています。TrmFO阻害剤は、新しい医薬品や農薬としての実用化が期待できます。

## 研究成果の概要

メチル化をはじめとするRNA修飾は、レトロウイルス、コレラ菌、チフス菌などの感染必須因子である。通常のRNAメチル化酵素はS-アデノシル-L-メチオニンをメチル基供与体とするが、例外的にN5, N10-メチレンテトラヒドロ葉酸をメチル基供与体とする酵素(TrmFO)(右図)も知られている。TrmFOは、広く真正細菌に分布しているが、ヒトをはじめとする動植物は持っておらず、抗菌剤開発の重要な標的タンパク質となっている。しかしながら、定量的な酵素活性測定法は、2009年に研究代表者らに報告(左下図)されるまで、存在しない状態であった。今回、この酵素活性測定法のブラッシュアップを図り、より定量的で、短時間に多検体を処理できる測定法を開発した。

アイソトープラベルメチレンテトラヒドロ葉酸を使った酵素活性測定法



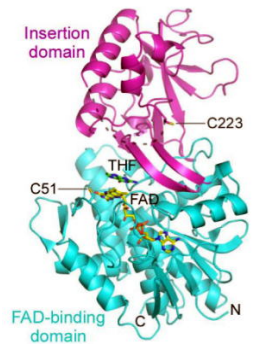
## 【従来技術・競合技術との比較】

N5, N10-メチレンテトラヒドロ葉酸は、不安定な化合物であり、RI標品も市販されていない。2009年に報告された研究代表者らの従来技術は、この化合物を系内でセリンからセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ(SHMT)の作用により供給し、TrmFOのメチル基転移活性を測定するものであった。今回、TrmFO、SHMT、テトラヒドロ葉酸のモル比を最適化することに成功し、測定レンジが広がり、反応速度分析が可能になった。すなわち、阻害剤の反応機構を分析できるレベルに到達した。

また、フィルターアッセイ系を用いれば、従来法に比べ、約1日早く、1000検体以上を処理することが可能となった。

H. Nishimasu et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 8180-8185 (2009)

R. Yamagami et al. J. Biol. Chem. 287, 42480-42496 (2012)



TrmFOの構造

## その他の研究テーマ

・RNA修飾と修飾酵素は、感染および免疫と深い関係があります。TrmFO以外についても研究を行っており、m7G46メチル化酵素がウリ類たんそ病菌の感染因子であることや、腸内細菌のGm18メチル化酵素がヒトトル様受容体7(TLR7)の外來一本鎖RNA検知システムをかくぐるための修飾であることなどを発見しています。

## 特許情報:

連絡先：愛媛大学社会連携推進機構

TEL:089-927-8819 (代表)

E-mail: renkei@stu.ehime-u.ac.jp