

Title	RNAプロセッシング制御の基盤を形成するバクテリアClp1遺伝子の機能解析
Sub Title	Analysis of the possible function(s) of bacterial Clp1 gene that forms the basis of RNA processing regulations
Author	金井, 昭夫(Kanai, Akio)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>真核生物のClp1ファミリータンパク質はRNA鎖の5'末端をリン酸化する酵素(ポリヌクレオチドキナーゼ)であり、Clp1グループと Nol9/Grc3グループより構成される。Clp1グループは前駆体tRNAのスプライシングやmRNAの3'末端形成に関与することが、また、Nol9/Grc3グループは前駆体rRNAのプロセッシングに関与することが知られている。これまで、我々は、バクテリアにもClp1様タンパク質が存在し、RNA鎖やDNA鎖の5'末端をリン酸化する活性があることを報告した (Saito et al., Genome Biol. Evol. 2019)。原核生物に存在するClp1タンパク質の機能に関しての手がかりを掴むため、本研究ではバクテリア細胞内に存在し、Clp1と相互作用するタンパク質の同定を目的とした。研究対象として、65～70 °Cの温度で最適に増殖し、好熱性、通性嫌気性バクテリアである <i>Thermus scotoductus</i> (Ts)を用いた。まず、<i>T. scotoductus</i>に由来するTs-Clp1にMycタグを付した組換え体酵素 Myc-Ts-Clp1を構築した。Tsの全細胞抽出液から、Mycタグに対する免疫沈降と質量分析法によりTs-Clp1と相互作用する因子を探索したところ、Myc-Ts-Clp1依存的に複数のタンパク質が同定された。この中には、RNA代謝に関連するタンパク質としてCold shock protein、S1 domain proteinが、またRNA分解酵素としてRibonuclease JやRibonuclease Rが、さらにRNA修飾酵素として、tRNA pseudouridine synthase BやRibosomal RNA small subunit methyltransferase Hなどが含まれていた。</p> <p>The eukaryotic Clp1 family proteins, consisting of the Clp1 and Nol9/Grc3 groups, have polynucleotide kinase activity at the 5' end of RNA strands and are important enzymes in the processing of some precursor RNAs. In a previous paper (Saito et al., Genome Biol. Evol. 2019), we reported the discovery and characterization of bacterial Clp1 proteins. To gain insight into the function of bacterial Clp1 proteins (genes), the current study aimed to identify proteins that are present in bacterial cell and interact with bacterial Clp1. We chose <i>Thermus scotoductus</i> (Ts), a thermophilic, facultative anaerobic bacterium that grows optimally at 65-70 °C, as our target organism. First, the recombinant enzyme Myc-Ts-Clp1 was constructed by attaching a Myc tag to Ts-Clp1 derived from <i>T. scotoductus</i>. Factors interacting with Ts-Clp1 were searched in Ts whole cell extracts by immunoprecipitation against Myc tag, and multiple proteins were identified in a Myc-Ts-Clp1-dependent manner by mass spectrometry. These included cold shock protein and S1 domain protein as proteins related to RNA metabolism, Ribonuclease J and Ribonuclease R as RNA degrading enzymes, and tRNA pseudouridine synthase B and Ribosomal RNA small subunit methyltransferase H as RNA modification enzymes.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000010-20220049

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	大学院政策・メディア研究科	職名	教授	補助額	300 (A) 千円
	氏名	金井 昭夫	氏名 (英語)	Akio Kanai		
研究課題 (日本語)						
RNA プロセッシング制御の基盤を形成するバクテリア Clp1 遺伝子の機能解析						
研究課題 (英訳)						
Analysis of the possible function(s) of bacterial Clp1 gene that forms the basis of RNA processing regulations						
1. 研究成果実績の概要						
<p>真核生物の Clp1 ファミリータンパク質は RNA 鎖の 5' 末端をリン酸化する酵素 (ポリヌクレオチドキナーゼ) であり、Clp1 グループと Nol9/Grc3 グループより構成される。Clp1 グループは前駆体 tRNA のスプライシングや mRNA の 3' 末端形成に関与することが、また、Nol9/Grc3 グループは前駆体 rRNA のプロセッシングに関与することが知られている。これまで、我々は、バクテリアにも Clp1 様タンパク質が存在し、RNA 鎖や DNA 鎖の 5' 末端をリン酸化する活性があることを報告した (Saito et al., Genome Biol. Evol. 2019)。原核生物に存在する Clp1 タンパク質の機能に関しての手がかりを掴むため、本研究ではバクテリア細胞内に存在し、Clp1 と相互作用するタンパク質の同定を目的とした。研究対象として、65~70 °C の温度で最適に増殖し、好熱性、通性嫌気性バクテリアである <i>Thermus scotoductus</i> (Ts) を用いた。まず、<i>T. scotoductus</i> に由来する Ts-Clp1 に Myc タグを付した組換え体酵素 Myc-Ts-Clp1 を構築した。Ts の全細胞抽出液から、Myc タグに対する免疫沈降と質量分析法により Ts-Clp1 と相互作用する因子を探索したところ、Myc-Ts-Clp1 依存的に複数のタンパク質が同定された。この中には、RNA 代謝に関連するタンパク質として Cold shock protein、S1 domain protein が、また RNA 分解酵素として Ribonuclease J や Ribonuclease R が、さらに RNA 修飾酵素として、tRNA pseudouridine synthase B や Ribosomal RNA small subunit methyltransferase H などが含まれていた。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>The eukaryotic Clp1 family proteins, consisting of the Clp1 and Nol9/Grc3 groups, have polynucleotide kinase activity at the 5' end of RNA strands and are important enzymes in the processing of some precursor RNAs. In a previous paper (Saito et al., Genome Biol. Evol. 2019), we reported the discovery and characterization of bacterial Clp1 proteins. To gain insight into the function of bacterial Clp1 proteins (genes), the current study aimed to identify proteins that are present in bacterial cell and interact with bacterial Clp1. We chose <i>Thermus scotoductus</i> (Ts), a thermophilic, facultative anaerobic bacterium that grows optimally at 65-70 °C, as our target organism. First, the recombinant enzyme Myc-Ts-Clp1 was constructed by attaching a Myc tag to Ts-Clp1 derived from <i>T. scotoductus</i>. Factors interacting with Ts-Clp1 were searched in Ts whole cell extracts by immunoprecipitation against Myc tag, and multiple proteins were identified in a Myc-Ts-Clp1-dependent manner by mass spectrometry. These included cold shock protein and S1 domain protein as proteins related to RNA metabolism, Ribonuclease J and Ribonuclease R as RNA degrading enzymes, and tRNA pseudouridine synthase B and Ribosomal RNA small subunit methyltransferase H as RNA modification enzymes.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
M. Saito, R. Inose, A. Sato, M. Tomita, and A. Kanai	Evolutionary selection and diversification of RNA processing enzymes in the primitive Clp1 gene in eukaryotes	The 23rd Annual Meeting of the RNA society of Japan, Kyoto.	2022 年 7 月			
M. Saito, R. Inose, A. Sato, M. Tomita, and A. Kanai	真核生物の進化における Polynucleotide kinase Clp1 遺伝子の獲得と喪失: 真核生物の初期型 Clp1 遺伝子の発見とその生化学的解析	第 45 回日本分子生物学会年会 幕張	2022 年 11 月			
M. Saito, R. Inose, A. Sato, M. Tomita, and A. Kanai	Diversification of Polynucleotide Kinase Clp1 Family Proteins and Their Possible Origins in Eukaryotic Evolution	bioRxiv, doi: https://doi.org/10.1101/2023.03.12.532321	2023 年 3 月			