

一般財団法人杉山産業化学研究所研究助成 研究報告書

2025年3月31日

一般財団法人杉山産業化学研究所 御中

福岡大学理学部化学科
研究代表者：倉岡 功

下記のとおり、研究成果について報告します。

記

1. 研究課題：ニコチン酸アミド付加酵素への変異導入による機能改変体の作製とその応用
2. 研究期間：2023年4月1日～2025年3月31日
3. 研究代表者：倉岡 功
4. 研究の目的と意義：

ニコチン酸アミドは、生体において重要な分子であり、さまざまな酵素の働きを助けることが明らかにされている。植物に感染する微生物の毒酵素であるニコチン酸アミド付加酵素が、DNA 損傷を誘導することが示唆されていた。申請者は、この DNA 損傷機構を解析する中で、本微生物毒酵素のニコチン酸アミド付加反応が、従来の報告とは全く異なる基質特異性を示すことを発見した。

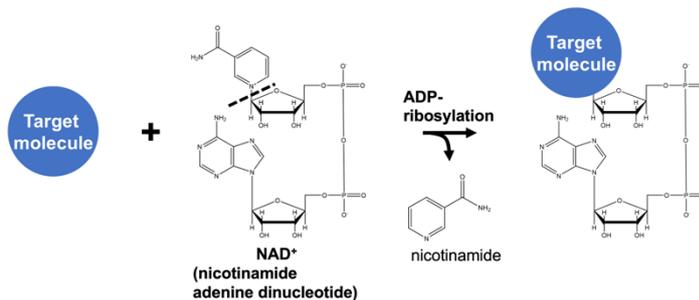


図 本微生物毒酵素は、NAD⁺を基質とし、リボシル化する。

本研究の目的は、本微生物毒酵素の機能改変体及びニコチン酸アミド類似体（Bio-NAD⁺、FIT-NAD⁺など）を用いることで、新たな応用技術を開発することである。その成果は、核酸修飾酵素として分子生物学的手法の新規解析法に、また mRNA ワクチンな

どを含む核酸医薬の研究開発に資することが期待される。

5. 研究結果および考察：

申請者は本微生物毒酵素の変異体を作製し、ニコチン酸アミドに対する生化学的性質を明らかにしている。そこで作成された変異体タンパク質(Y129A、W155A)を精製し、その生化学的性質を再確認した。しかしながらランダム変異では十分な変異体を生産することができなかった。

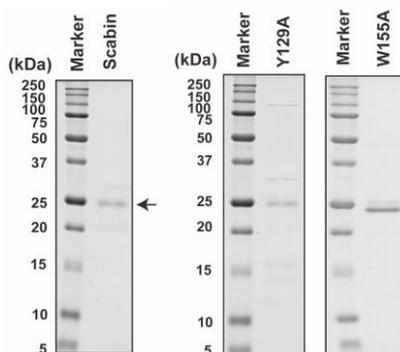


図 精製された本微生物毒酵素およびその変異体

一方遺伝学的に予測された変異体においては、その核酸基質特異性に変化を見出すことができた。その核酸基質特異性の生化学解析から、核酸塩基の3'側のグアニン塩基(3'G)を、他の(5'GおよびCenter G)より、優先的にニコチン酸アミド付加反応することが明らかになった。

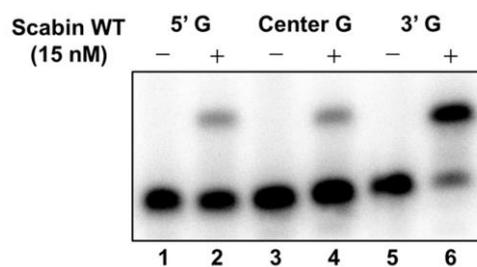


図 精製された本微生物毒酵素の活性特性

成熟 mRNA は、一般に 5' に 7-methylguanosine を有するため、本微生物毒酵素を用いて、単離できることが予測された。しかしながら、HeLa 細胞から単離された total RNA において、本微生物毒酵素を用いて成熟 RNA の単離することはできなかった。

6. 研究の展望：

本微生物毒酵素のユニークな活性は、RNA においてはその活性を活かすことができなかったものの、今後 DNA 修飾酵素として応用可能である。