

I 出芽酵母を用いた核-細胞質間輸送をはじめとする tRNA 動態の解析

Analyses of tRNA kinesis, including nuclear-cytoplasmic transport of tRNAs, in budding yeast

吉久徹

Yoshihisa, T.

真核生物の tRNA は、核で転写された後、様々な修飾を受けて成熟化し、最終的には細胞質で翻訳因子として機能する。一部の tRNA は intron を含んだ前駆体として転写されるが、ほとんどの intron は anticodon の 1 塩基隣に挿入されており、その splicing は tRNA の機能化に必須である。tRNA の splicing は、mRNA とは異なり、タンパク質のみから成る酵素群が司るが、我々は出芽酵母の splicing 酵素群が核内ではなく、細胞質、特にミトコンドリア表面で働くことを明らかにした。さらに我々は、成熟体 tRNA が細胞質と核とを行き来しながらその一生を過ごすことも見出している。現在、この過程を司る、または、制御する分子機構の全貌を明らかにするため、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いて解析を進めている。さらに近年、tRNA のレパートリーが、生理的環境や生物の発生段階、組織形成に応じて変化するという証拠が得られつつある。我々は、様々な条件下での tRNA 量の絶対定量法の開発や、積極的な tRNA 量の改変を通じ、tRNA レパートリーの生理的環境に応じた動態の詳細や、それを可能にする機構、さらには、そうしたレパートリー変化が翻訳をはじめとする生理機能へ及ぼす影響を解析している。

II 出芽酵母の tRNA 遺伝子に含まれる intron の生理的意義の解析

Studies on physiological functions of tRNA introns in budding yeast

吉久徹

Yoshihisa, T.

前駆体 tRNA 中の intron は、除かれることが tRNA の機能化に必須だが、逆に言えば tRNA 遺伝子に intron は必要なのだろうか？私達は、染色体上の遺伝子組換えが容易な出芽酵母の特性を生かし、tRNA の種類毎に、intron を持つ遺伝子全てを intron 欠失型に置き換えるプロジェクトを進め、全ての isoacceptor tRNA にとって intron は必ずしも必要でないことを明らかにしている。現在、intron の無いことが tRNA の成熟化や翻訳にどう影響するのかについて、特に tRNA-Ile_{UAI} のアンチコドン修飾とその働きを中心に解析している。

III 一時的翻訳停止を必要とする mRNA の翻訳再開と品質管理回避のメカニズムの解析

Investigation of mechanisms that allow translational restart and avoidance from mRNA surveillance of certain mRNAs that require tactical translational arrest for their regulation.

吉久徹
Yoshihisa, T.

出芽酵母の小胞体ストレス応答の鍵転写因子である Hac1 は、tRNA 型の細胞質スプライシングを受けるめずらしい mRNA から翻訳される。しかし、前駆体 *HAC1* mRNA は、(1) 翻訳停止状態にあること、(2) 見かけ上、未成熟終止コドンと認識されうる読み枠構造をもつこと、等から、mRNA の品質管理機構によって分解されるべき特性を持つにもかかわらず、非ストレス下で安定な休眠の状態にある。他の mRNA でも、その2次構造や rare codon を用いた一時的翻訳停止を用いて、タンパク質のドメイン毎の折りたたみを可能にする例があるが、こうした mRNA の翻訳停止機構がある程度理解されているに対し、その翻訳再開機構はよくわかっていない。当然、こうした mRNA もこれらも見かけ上 mRNA の品質管理に抵触している。そこで、*HAC1* mRNA をはじめとする一時的翻訳停止を伴う mRNA の品質管理回避や、翻訳再開の機構について研究を進めている。

IV 傷害 tRNA の分解と修飾ヌクレオチドの代謝

Degradation of aberrant tRNAs and metabolism of modified nucleotides derived from the tRNAs.

吉久徹
Yoshihisa, T.

出芽酵母の様な非対称分裂を行う真核生物では、タンパク質やオルガネラがその機能状態に応じて選別され、傷害を受けたものが若い細胞に分配されない仕組みがあることが近年明らかになっている。しかし、RNA に関してはそのような非対称な傷害 RNA の分配、処分があるかどうか、誰も検討してこなかった。我々は、酵母の細胞周期に匹敵する安定性を有する tRNA を題材に、傷害を受けた RNA の非対称分配があるかどうかを検討している。さらに、tRNA が多様な修飾ヌクレオチドを転写後修飾の形で獲得することに着目し、tRNA 分解の際に、そうした修飾ヌクレオチドがどう処理される、もしくは、細胞機能に影響を与えるかを、温度感受性変異 tRNA 発現株の構築を通じて解析する系を構築している。

V 原生動物の運動に関する分子機械

Studies on biomolecules responsible for motility of protozoa

園部誠司・吉久徹
Sonobe, S., Yoshihisa, T.

原生動物は1個の細胞が1個体であり、運動、摂食、分裂、環境応答など多細胞生物が持つ様々な機能を同等に持っているが、1細胞であるがゆえに多細胞生物の細胞には見られない独特の様式でこれらの機能を発現している。特に運動様式は特殊なものが多くみられる。しかし、そこで用いられている運動タンパク質は微小管、アクチンといった多細胞生物と共通のものである。さまざまな原生動物を用いて、それらの特殊な運動様式の仕組みの解明を行い、それを通じて運動機構の普遍的な原理を明らかにすることを目指している。現在用いている原生動物は *Lacrymaria*、*Amoeba* およびケイソウの *Bacillaria*、

Pleurosigma である。

VI 植物の形態形成に関与する分子機械

Studies on biomolecules responsible for morphogenesis in plants

園部誠司・吉久徹

Sonobe, S., Yoshihisa, T.

植物の形は個々の細胞の形と細胞の配列により決定されている。前者は膨圧による細胞伸長が細胞壁とその配向を制御する微小管によってなされており、後者は細胞質分裂時の細胞板位置決定によりなされている。現在は細胞板位置決定機構をタバコ培養細胞を用いて解析しており、アクチン繊維の構築が重要な役割を果たしていることが示唆されている。

VII 植物小胞体の形態形成に関与する分子機械

Studies on biomolecules responsible for morphogenesis of endoplasmic reticulum in plant cells

横田悦雄・吉久徹

Yokota, E., Yoshihisa, T.

植物細胞の機能発現において、細胞骨格は重要な役割を果たしている。原形質流動におけるアクチン-ミオシン系の役割について、研究を行ってきた。植物特異的なミオシン XI による小胞体流動により、原形質流動が引き起こされること、また原形質流動の速度が植物のサイズに影響を及ぼすことを明らかにした。そして輸送だけではなく、小胞体の形態形成機構におけるアクチン-ミオシン系や、小胞体膜タンパク質である RHD3 の役割について解析を行っている。

VIII その他の共同研究

Other collaborations

吉久徹・園部誠司・横田悦雄

Yoshihisa, T., Sonobe, S., Yokota, E.

発表論文 List of Publications

I-1 Takano, A. (Nagoya Univ.), Kajita, T. (Nagoya Univ.), Mochizuki, M. (Nagoya Univ.), Endo, T. (Kyoto Sangyo Univ.), and Yoshihisa, T. (2015)

Cytosolic Hsp70 and co-chaperones constitute a novel system for tRNA import into the nucleus.

eLife, 4, e04659. DOI: 10.7554/eLife.04659

- I-2 Yoshihisa, T. (2015)
Nucleocytoplasmic shuttling of tRNAs and implication of the cytosolic Hsp70 system in tRNA import.
Nucleus, **6**, 339-343. DOI: 10.1080/19491034.2015.1082696.
- I-3 高野晃 (名古屋大) ・梶田拓弥 (名古屋大) ・望月誠 (名古屋大) ・遠藤斗志也 (京都産業大) 、吉久徹 (2015)
出芽酵母の主要な細胞質 Hsp70 である Ssa2p は、tRNA の核内輸送担体として働く
日本生化学会・日本分子生物学会合同大会 (神戸ポートアイランド・神戸市) 2015 年 12 月 1 日～12 月 4 日
- I-4 高野晃 (名古屋大) 、梶田拓弥 (名古屋大) 、望月誠 (名古屋大) 、遠藤斗志也 (京都産業大) 、吉久徹 (2015)
tRNA の核内輸送における細胞質 Hsp70 ・コシャペロン系の機能
第 17 回日本 RNA 学会年会 (ホテルライフオー ト札幌) 2015 年 7 月 15～17 日
- I-5 永井陽久、吉久徹 (2015)
出芽酵母における各 isodecoder tRNA の絶対定量
第 33 回イーストワークショップ (せとうち児島ホテル・倉敷市) 2015 年 11 月 13～14 日
- I-6 河野龍之進、吉久徹 (2015)
tRNA-Lys^{UUU} 温度感受性変異の構築
第 33 回イーストワークショップ (せとうち児島ホテル・倉敷市) 2015 年 11 月 13～14 日
- I-7 Jiyao Song (京都産業大) 、田村康 (山形大) 、吉久徹、遠藤斗志也 (京都産業大) (2015)
Analysis of outer membrane insertion mechanism of yeast mitochondrial protein
日本生化学会・日本分子生物学会合同大会 (神戸ポートアイランド・神戸市) 2015 年 12 月 1 日～12 月 4 日
- II-1 Tsuboi, T. (Tohoku Univ.), Yamazaki R. (Tohoku Univ.), Nobuta, R. (Tohoku, Univ.), Ikeuchi, K. (Tohoku Univ.), Makino, S. (Tohoku, Univ.), Ohtaki, Y. (Tohoku, Univ.), Suzuki, Y. (Tohoku, Univ.), Yoshihisa, T., Trotta, C. (PTC Therapeutics), and Inada, T. (2015)
The tRNA splicing endonuclease complex cleaves the mitochondria-located *CBP1* mRNA.
J. Biol. Chem., **290**, 16021-16030. DOI: 10.1074/jbc.M114.634592
- II-2 吉久徹 (2016)
真核生物における tRNA の動態
2015 年度遺伝研研究会 (国立遺伝学研究所・三島市) 2016 年 3 月 25～26 日
- III-1 吉久徹・小林小夏・佐藤大典・稲田利文 (東北大) ・遠藤斗志也 (京都産業大) (2015)
酵母 *HAC1* mRNA の特異な翻訳制御と RNA 品質管理回避
第 67 回日本細胞生物学会大会 (ワークショップ) (タワーホール船堀・東京都) 2015 年 6 月 30 日～7 月 2 日
- III-2 山本智加・小林小夏・吉久徹 (2015)
酵母 *HAC1* mRNA の翻訳制御と品質管理との関係
第 33 回イーストワークショップ (せとうち児島ホテル・倉敷市) 2015 年 11 月 13～14 日
- IV-1 鎌田宏美・蓑毛諒太・吉久徹 (2015)
出芽酵母の細胞分裂時に tRNA は非対称分配されるか
第 33 回イーストワークショップ (せとうち児島ホテル・倉敷市) 2015 年 11 月 13～14 日
- V-1 Ito, H. (Kyoto Univ), Nishigami, Y. (Kyoto Univ), Sonobe, S. and Ichikawa, M. (Kyoto Univ) (2015)
Wrinkling of a spherical lipid interface induced by actomyosin cortex.

Phys. Rev. E, **92**, e062711.

- V-2 Yamaoka, N., Suetomo, Y. (Iwakuni Microbiol Museum), Yoshihisa, T. and Sonobe, S. (2016)
Motion analysis and ultrastructural study of a colonial diatom, *Bacillaria paxillifer*.
Microscopy (Oxf), **65**, 211-221.
- V-3 Nishigami, Y. (Kyoto Univ), Ito, H. (Kyoto Univ) Sonobe, S. and Ichikawa, M. (Kyoto Univ) (2016)
Non-periodic oscillatory deformation of an actomyosin microdroplet encapsulated within a lipid interface.
Sci. Rep., **6**, 18964.
- V-4 山岡望海・岩田拓也・吉久徹・園部誠司 (2015)
滑走運動を行うケイソウの粘液物質の動き
第48回日本原生生物学会 (国立感染症研究所・東京) 2015年11月7日
- V-5 小橋川剛・吉久徹・園部誠司 (2015)
吸管虫 *Hypophrya* sp. の捕食機構の解明
第48回日本原生生物学会 (国立感染症研究所・東京) 2015年11月7日
- V-6 西上幸範 (京都大)・伊藤弘明 (京都大) ・園部誠司・市川正敏 (京都大) (2016)
アクトミオシン系で変形する人工細胞の作製
生体運動合同班会議 (キャンパスプラザ京都・京都) 2016年1月8日
- V-7 山岡望海・岩田拓也、園部誠司 (2016)
ケイソウの滑走運動に関わる粘液物質の動態
生体運動合同班会議 (キャンパスプラザ京都・京都) 2016年1月9日
- V-8 小橋川剛・園部誠司 (2016)
吸管虫の食胞形成
生体運動合同班会議 (キャンパスプラザ京都・京都) 2016年1月9日
- VI-1 Yabuuchi, T., Nakai, T., Sonobe, S., Yamauchi, D and Mineyuki, Y. (2015)
Preprophase band formation and cortical division zone establishment: RanGTP behaves differently from microtubules during their band formation.
Plant Signal Behav., **10**, e1060385
- VI-2 Ido, A. (Nagoya City Univ), Iwata, S. (Nagoya City Univ), Iwata, Y. (Nagoya City Univ), Igarashi, H., Hamada, T., Sonobe, S., Sugiura, M. (Nagoya City Univ) and Yukawa, Y. (Nagoya City Univ) (2015)
Arabidopsis pol II-dependent in vitro transcription system reveals role of chromatin for light-inducible *rbcS* gene transcription.
Plant Physiol., **170**, 642-652.
- VII-1 Ueda, H. (Kyoto Univ.), Yokota, E., Kuwata, K. (Nagoya Univ.), Kutsuna, N. (Tokyo Univ.), Mano, S. (NIBB), Shimada, T. (Kyoto Univ.), Tamura, K. (Kyoto Univ.), Stefano, G. (Michigan State Univ.), Fukao, Y. (Ritsumeikan Univ.), Brandizzi, F. (Michigan State Univ.), Shimmen, T., Nishimura, M. (NIBB) and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.) (2016)
Phosphorylation of the C-terminus of RHD3 has a critical role in homotypic membrane fusion in Arabidopsis.
Plant Physiol., **170**, 867-880.
- VII-2 富永基樹 (早稲田大)・伊藤光二 (千葉大)・原口武士 (千葉大)・横田悦雄・新免輝男・中野明彦 (東京大) (2015)
速度改変型キメラミオシン XI の発現により明らかになってきた原形質流動の機能と制御
第67回日本細胞生物学会大会 (タワーホール船掘・東京都江戸川区) 2015年7月2日

- VII-3 高松秀安 (大阪大)・森井真美 (大阪大)・横田悦雄・高木慎吾 (大阪大) (2015)
 ホウレンソウのピリン様蛋白質が葉緑体アンカーに果たす役割
 日本植物学会第79回大会 (朱鷺メッセ・新潟県新潟市) 2015年9月8日
- VII-4 富永基樹 (早稲田大)・伊藤光二 (千葉大)・原口武士 (千葉大)・横田悦雄・中野明彦 (東京大) (2015)
 速度改変型キメラミオシン XI の発現により明らかになってきた原形質流動の機能と制御
 第53回日本生物物理学会年会 (金沢大学角間キャンパス・石川県金沢市) 2015年9月14日
- VII-5 Ueda, H. (Kyoto Univ.) and Yokota, E. (2015)
 Active movement and network formation of the endoplasmic reticulum in plant cells.
 日本生化学会・日本分子生物学会合同大会 (神戸ポートアイランド・神戸市) 2015年12月1日～12月4日
- VII-6 上田晴子 (京都大)・横田悦雄・桑田啓子 (名古屋大)・真野昌二 (基生研)・嶋田知生 (京都大)・
 田村謙太郎 (京都大)・深尾陽一朗 (立命館大)・新免輝男・西村幹夫 (基生研)・西村いくこ (京都大) (2016)
 リン酸化を介した小胞体膜融合因子 RHD3 の活性調節
 第57回日本植物生理学会年会 (岩手大学上田キャンパス・盛岡市) 2016年3月20日
- VIII-1 姜公秀・吉久徹・阪口雅郎 (2015)
 翻訳共役型タンパク質膜透過における翻訳後膜透過因子 Sec71 及び Sec72 の寄与
 日本生化学会・日本分子生物学会合同大会 (神戸ポートアイランド・神戸市) 2015年12月1日～12月4日
- VIII-2 姜公秀・吉久徹・阪口雅郎 (2015)
 翻訳共役型タンパク質膜透過における翻訳後膜透過因子 Sec71 及び Sec72 の寄与
 第67回日本細胞生物学会大会 (タワーホール船堀・東京都) 2015年6月30日～7月2日

大学院生命理学研究科

博士後期課程

在間 健悟：植物細胞の分裂面決定機構

博士課程 (5年一貫)

山岡 望海：イカダケイソウの運動機構

梁瀬 隆二：ラクリマリアの運動機構

博士前期課程

小橋川 剛：吸管虫の捕食機構

科学研究費補助金等

- 1 文部省科学研究費補助金 (平成26～27年度) 挑戦的萌芽研究 課題番号 26650009
 研究課題 古いtRNAの分解と修飾ヌクレオチドの代謝
 研究代表者 吉久徹
- 2 文部省科学研究費補助金 (平成27～28年度) 新学術領域研究 課題番号 15H01542
 研究課題 一時停止状態にある翻訳の再開を保證する機構の解明
 研究代表者 吉久徹