

## I 出芽酵母を用いた tRNA の核-細胞質間輸送機構の解析

Analyses of 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。

## 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<sub>UAU</sub> 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与する分子機械

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*、*Hypophrya*、*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。

### 発表論文 List of Publications

- I-1 Song, J. (Nagoya Univ.), Tamura, Y. (Nagoya Univ.), Yoshihisa, T., and Endo, T. (Kyoto Sangyo Univ.) (2014)  
A novel import route for an N-anchor mitochondrial outer membrane protein aided by the TIM23 complex. EMBO Report, 15: 670-677.
- I-2 Song, J. (Nagoya Univ.), Tamura, Y. (Nagoya Univ.), Yoshihisa, T., and Endo, T. (Kyoto Sangyo Univ.) (2014)  
A novel import route for an N-anchor mitochondrial outer membrane protein aided by the TIM23 complex.  
生化学会第 87 回大会 (国立京都国際会館・京都府京都市) 2014 年 10 月 17 日
- I-3 吉久 徹 (2014)  
私はどうやって「tRNA の一生」にたどり着いたか  
シンポジウム「分子から生命へ」 (京都大学・京都府京都市) 2014 年 7 月 26 日
- II-1 Yoshihisa, T., (2014)  
Handling tRNA introns, archaeal way and eukaryotic way.  
Frontiers in Genetics, 6: e00213
- II-2 吉久 徹 (2014)  
出芽酵母における tRNA の細胞内動態とイントロン - 遺伝子から成熟体の動態まで-  
第 78 回酵母研究会 (アサヒビール吹田工場・大阪府吹田市) 2014 年 8 月 7 日

III-1 吉久 徹 (2014)

The complex life of small RNAs. — tRNA の成熟化と細胞内動態—

第3回さきがけ懇話会 (ラフォーレ倶楽部・静岡県伊東市) 2014年10月26日

V-1 小橋川剛・吉久 徹・園部誠司 (2014)

吸管虫 *Hypophrya* sp. の捕食機構の解明

第47回日本原生生物学会大会 (宮城教育大学・宮城県仙台市) 2014年11月1日

V-2 梁瀬隆二・吉久 徹・園部誠司 (2014)

繊毛虫 *Lacrymaria olor* のプロボシスの伸縮機構

第47回日本原生生物学会大会 (宮城教育大学・宮城県仙台市) 2014年11月1日

V-3 山岡望海・末友靖隆・吉久 徹・園部誠司 (2014)

滑走運動を行うケイソウのミオシン様タンパク質

第47回日本原生生物学会大会 (宮城教育大学・宮城県仙台市) 2014年11月1日

V-4 西上幸範・谷口篤史・野中茂紀・園部 誠司・市川正敏 (2014)

*Amoeba proteus* の単離細胞膜が示す自発曲率と生細胞三次元曲率に関する研究

第47回日本原生生物学会大会 (宮城教育大学・宮城県仙台市) 2014年11月1日

V-5 園部誠司 (2014)

原生動物の運動

第103回 大阪大学大学院生命機能研究科コロキウム (大阪大学・大阪府吹田市) 2014年12月10日

V-6 山岡望海・末友靖隆・吉久 徹・園部誠司 (2015)

ケイソウのミオシン

生体運動合同班会議 (学習院大学・東京都) 2015年1月7日

V-7 西上幸範・伊東弘明・園部誠司、市川正敏 (2015)

アクトミオシン液滴が示す表層コーテックス構造と動的変形

生体運動合同班会議 (学習院大学・東京都) 2015年1月7日

V-8 梁瀬隆二・吉久 徹・園部誠司 (2015)

繊毛虫 *Lacrymaria olor* の proboscis の伸縮機構

生体運動合同班会議 (学習院大学・東京都) 2015年1月8日

VII-1 上田晴子 (京都大)・横田悦雄・朽名夏磨 (東京大)・西村いくこ (京都大)

植物の細胞内ダイナミクス

第23回日本バイオイメージング学会学術集会 (大阪大学・大阪府吹田市) 2014年9月6日

VII-2 横田悦雄・織井秀文・田原寛・森安裕二(埼玉大)・新免輝男・高木慎吾 (大阪大)

アクチン結合タンパク質ピリンの活性はリン脂質により修飾される

第56回日本植物生理学会年会 (東京農業大学・東京都世田谷区) 2015年3月16日

## 大学院生命理学研究科

博士前期課程

小橋川 剛: 吸管虫の捕食機構

#### 博士後期課程

中瀬 琢登：アオミドロの接合の機構

在間 健悟：植物細胞の分裂面決定機構

大江由佳子：アメーバにおける収縮胞の再生機構

#### 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

### 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24-26年度）新学術領域 課題番号 25117520  
研究課題 イカダケイソウのミオシン様タンパク質の同定  
研究代表者 園部誠司
- 3 文部省科学研究費補助金（平成23-26年度）基盤研究（A） 課題番号 23247009  
研究課題 植物細胞内における小胞体の形態形成と機能分化  
研究代表者 新免輝男  
研究分担者 横田悦雄
- 4 文部省科学研究費補助金（平成24-26年度）基盤研究（C） 課題番号 24570057  
研究課題 高等植物小胞体チューブ形成におけるリン酸化を介した調節機構の解明  
研究代表者 横田悦雄