

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？我々は、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^{U_{AU}} のアンチコドン修飾とその働きや、核小体の形態に影響が出た tRNA-Leu^{CAA} のイントロン欠失株が示す翻訳や ribosome 形成への影響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。特に、*HAC1* mRNA の翻訳制御にも関わり、この mRNA の細胞質スプライシング因子でもある Rlg1 に着目した解析を進めている。一方、複数のリボソームが同じ mRNA 分子上に複数並んで翻訳を進めるのが普通であるが、一部の mRNA では十分な長さがあるにもかかわらず、1 分子の mRNA に 1 個のリボソームしか結合しない状態で翻訳される。こうした mRNA の翻訳制御についても研究を進めている。

IV 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。

V 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。

VI 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。その結果 RHD3 が小胞体膜融合因子であり、リン酸化によりその活性が調節されることが示された。

VII 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 吉久 徹：核を巡る tRNA のダイナミクス：第 81 回日本植物学会（招待講演）（東京理科大学・野田市）（2017）
- I-2 永井 陽久、塩見 由麻、森 滉平、佐藤 友衣子、河野 龍之進、林 紗千子、吉久 徹：プロテオーム形成を影から支える tRNA レパートリーを解析する。：植物 RNA 研究ネットワークシンポジウム（招待講演）（国立遺伝学研究所・三島市）（2017）
- I-3 Akihisa Nagai, Ryunoshin Kohno, Sachiko Hayashi, Tohru Yoshihisa : Analysis and manipulation of the tRNA repertoire affecting protein synthesis in yeast cells. : International Symposium on Protein Quality Control (東大寺総合文化センター・奈良市) (2017)
- I-4 Tohru Yoshihisa : Analysis of dynamics of tRNAs in yeast, where and how much. : 理研シンポジウム「Recent Progress in tRNA Biology and Translation」(招待講演) (理化学研究所・和光市) (2018)
- I-5 永井 陽久、森 滉平、吉久 徹：出芽酵母を用いた tRNA イントロンの持つ生理的意義の解明：第 19 回日本 RNA 学会年会（富山国際会議場大手町フォーラム・富山市）（2017）
- I-6 Akihisa Nagai, Kouhei Mori, Tohru Yoshihisa : Absolute quantification of tRNA isodecoders in *Saccharomyces cerevisiae*. : 生命科学系学会合同年会（神戸ポートアイランド・神戸市）（2017）
- I-7 Yuiko Sato, Tohru Yoshihisa : Do No-Go Decay (NGD) factors compete with minor tRNAs to occupy the ribosomal A-site in translation? : 生命科学系学会合同年会（神戸ポートアイランド・神戸市）（2017）
- II-1 林 紗千子、吉久 徹：出芽酵母を用いた tRNA イントロンの持つ生理的意義の解明：第 19 回日本 RNA 学会年会（富

山国際会議場大手町フォーラム・富山市) (2017)

- II-2 Sachiko Hayashi, Tohru Yoshihisa : Impact of intron removal from tRNA genes in *S. cerevisiae* : 生命科学系学会合同年会 (神戸ポートアイランド・神戸市) (2017)
- III-1 吉見 理子、山本 智加、吉久 徹 : 酵母 *HAC1* mRNA の安定化・翻訳再開に関与する tRNA ligase、Rlg1 の遺伝的解析 (富山国際会議場大手町フォーラム・富山市) (2017)
- IV-1 Yanase, R., Nishigami, Y., Ichikawa, M., Yoshihisa, T., Sonobe, S.: The neck deformation of *Lacrymaria olor* depending upon cell states. *J. Protistology*, **51**, e001 (2018)
- VII Donald Voet, Judith Voet, Charlotte Pratt 著、田宮 信雄、八木 達彦、遠藤 斗志也 (京都産業大学)、吉久 徹 訳 : ヴォート基礎生化学・第5版、東京化学同人 (2017)

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)

梁瀬 隆二 : ラクリマリアの運動機構

博士前期課程

永井 陽久 : 出芽酵母における isodecoder tRNA の絶対定量

佐藤 友衣子 : 出芽酵母の No-Go Decay (NGD) の効率、minor tRNA と NGD 因子との量比の変化で影響を受けるか

山本 智加 : *HAC1* mRNA の翻訳制御・NGD 回避制御の機構解明

吉見 理子 : *rlg1* 変異を利用した *HAC1* mRNA の翻訳制御・NGD 回避制御に関わる新規因子の遺伝学的探索

科学研究費補助金等

- 1 文部省科学研究費補助金 (平成 29~30 年度) 新学術領域研究 課題番号 17H05672
研究課題 機動的翻訳速度制御と tRNA レパートリー
研究代表者 吉久徹
- 2 日本学術振興会科学研究費補助金 (平成 29~31 年度) 基盤研究(C)一般 課題番号 17K07289
研究課題 真核生物における tRNA 組成の可塑性を導く tRNA 遺伝子の個別制御の検討
研究代表者 吉久徹
- 3 日本学術振興会科学研究費補助金 (平成 29~31 年度) 基盤研究(C)特設分野研究 課題番号 17KT0113
研究課題 核膜孔を介した RNA 輸送のボトムアップ型再構築に向けての基盤整備
研究代表者 吉久徹