

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 25 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	生物に普遍的に存在する tRNA 硫黄修飾および硫黄代謝動態に関する研究		
研究代表者	氏名	中井 由実	
	所属機関名・部局名	大阪医科大学・医学部生化学教室	
	職名	講師	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中井正人		
<p>tRNAは様々な箇所に転写後修飾を持つ。Lys/ Glu/ Gln のコドンはいずれも3番目がAまたはGであり、これに対応するtRNAの部位 (wobble位) がウリジン(U34)の場合ウラシルの2位と5位の炭素に硫黄原子及びメトキシカルボニルメチル(mcm)基の修飾基を有し、この修飾が存在することで、AのみならずGとも対合することが可能になる。従ってこの修飾の存在は蛋白質翻訳の効率の維持と正確性に寄与する。我々はこの修飾を欠失した酵母細胞では、ストレス環境下の生育が特に悪くなることなどから、wobbleU34修飾が細胞の生存や生理機能に影響を及ぼすことを見出してきた。一方、我々はこれまでに、tRNA-wobbleU34修飾が酵母同様、植物にも存在することを明らかにしている。植物は生育環境からの物理的逃避が難しい分、生育における耐久性や環境応答の柔軟性のための多様な分子メカニズムを有し、その中には転写のみならずタンパク質の翻訳レベルでの調節も多いと考えられる。このような翻訳調節の仕組みにおけるtRNA-wobbleIU34修飾の意義を明らかにするため、モデル植物シロイヌナズナのtRNA-wobbleIU34の2つの修飾の欠損株、すなわち硫黄修飾の必須タンパク質URM (シロイヌナズナではURM11とURM12の2遺伝子)の完全欠失株及びmcm基合成に必須なエロンゲータ複合体の活性サブユニットELO3欠失株を作出し、これらの葉細胞の発生・分化の解析を行った。その結果、tRNA-wobbleU34修飾の硫黄またはmcm 基それぞれの欠損株の生育速度は野生株と同様であるが、特に葉細胞の発生段階には修飾タンパク質欠損の影響が見られた。すなわち、ロゼッタ葉発生初期では野生株に比べてURMまたはELOの両変異株で顕著に葉肉細胞間の細胞間隙が広く、それに対し表皮細胞は野生株より有意に小さく数が多いことを見出した。さらに葉肉細胞の核相解析の結果、変異株では野生株よりもロゼッタ葉の葉肉細胞では増殖モードから分化モードへの変換点である核内倍加現象への移行が遅延していることを明らかにした。葉肉細胞は核内倍加モードでも細胞の数や大きさに大きな変化はないが、表皮細胞の細胞数と大きさは核内倍加サイクルに入ると大きく変化し、様々な核相の、その核相の大きさに比例した様々な表面積の表皮細胞を形成する。したがって、野生株と比較してtRNA-wobbleU34修飾変異株で葉肉細胞間隙の変化が見られたのは、ロゼッタ葉の核内倍加遅延によって表皮細胞と葉肉細胞の数と大きさの連携がうまくいかず葉細胞内で表皮と内側(葉肉側)の空間的配置のアンバランスが生じたためであろうと結論づけられた。</p>			