戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－フランス研究交流）

１．研究課題名：「酵母の栄養条件の変化への適応と細胞内輸送を統合する　超分子ナノマシンの構造と時空間ダイナミクス」
２．研究期間：平成２２年１月～平成２５年３月
３．支援額：　総額 14,600,000 円
４．主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め６名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	濡木理	東京大学大学院理学系研究科	教授
研究者	石谷隆一郎	東京大学大学院理学系研究科	准教授
研究者	野澤佳世	東京大学大学院理学系研究科	特任研究員
研究者	加藤めぐみ	東京大学大学院理学系研究科	博士課程2年
研究者	佐原奈保子	東京大学大学院理学系研究科	修士課程2年
研究者			
参加研究者　のべ　5名			

相手側（研究代表者を含め６名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Becker Hubert D.	UPR9002fromCNRS(ARN)	Professor(PR 2)
研究者	Kern Daniel	UPR9002fromCNRS (ARN)	Professor (PCE)
研究者	Senger Bruno	UPR9002fromCNRS(ARN)	UPR 9002 from CNRS(ARN)
研究者	Frechin Mathieu	UPR9002fromCNRS(ARN)	PhD Student
研究者	Enkler Ludovic	UPR9002fromCNRS(ARN)	Master’s Student
研究者			
参加研究者　のべ　5　名			

５．研究・交流の目的

本研究では、酵母において、遺伝暗号翻訳の基本因子の細胞内輸送と栄養飢餓応答を統合する超分子ナノマシンの構造、動的側面、機能制御を解明する。このナノマシンは、翻訳因子を通常細胞室内にとどめているが、これを解離することによって、２つの翻訳因子はそれぞれミトコンドリアと核に移行し、新規の生命機能を発揮する。さらに重要なことは、この２つの翻訳因子を細胞質につなぎ止めているプラットフォーム因子の発現が、栄養条件によって制御される点にある。両チームは、機能解析と構造解析という相補的な専門を活かし、このナノマシンがどのように会合し機能を発揮するか、またこの複合体あるいは構成因子が、酵母ミトコンドリアの生理的条件への応答を制御し、核とミトコンドリアのクロストークにどのように働いているのかを明らかにする。

６．研究・交流の成果

６－１　研究の成果

1. 酵母の核内で合成されたアミノアシル tRNA を、exportin である Lop1p から受け取り EF1a に受け渡すチャネリング蛋白質 Cex1p の結晶構造を 2.1A 分解能で決定した（Nozawa *et al*., *Nucleic Acids Res.*, 2013）。Cex1p はキナーゼ様ドメインとこれに続く Heat-repeat ドメインによって構成され、Heat-repeat ドメインには陽電荷を帯びた塩基性のパッチが存在し、tRNA などの RNA を結合することが示唆された。実際にゲルシフト解析を行うことで、Heat-repeat ドメインの 2 つの Lys 残基が tRNA の結合に重要であること、またキナーゼ様ドメインは RNA の結合に関与しないことを明らかにした。また、Hubert 博士らにより、Cex1p は核膜複合体 Utp8p, Utp9p, Utp23p と複合体を作り、これらのタンパク質がアミノアシル tRNA を Cex1p にリクルートすることが示唆され、キナーゼ様ドメインはこの複合体形成に働くことが示唆されている。一方、Hubert 博士らは、酵母において発酵ステージから呼吸ステージに切り替わると、メチオニル tRNA 合成酵素が核に移行し、Cex1p の転写を亢進することで、Arc1p の転写減退が補われることを明らかにした。現在、CNRS の Hubert 博士の研究室で、我々が作成した Cex1p の様々な変異体を用いて、Cex1p, Arc1p ノックアウト株の遺伝学的な相補実験を推進し、本研究を共同研究としてまとめ、論文を投稿中である。
2. Hubert博士らの研究により、酵母において発酵ステージから呼吸ステージに切り替わると、Arc1pにより細胞質に繋留されていた$_{c}$MetRSは核に移行し、ミトコンドリア蛋白質の転写因子の制御を行い、一方$_{c}$GluRSはミトコンドリアに移行しミトコンドリアでの蛋白質合成を活性化することが明らかになっている。ミトコンドリアでは、細胞質の$_{c}$GluRSによりGluをミスチャージされたミトコンドリア$_{m}$tRNA^{Gln}が新規tRNA依存性アミド基転移酵素GatFABによりGln-$_{m}$tRNA^{Gln}に変換される。我々は、GatFABの結晶構造を 1.9A分解能で決定した（図 2）。本構造は、オルガネラ由来tRNA依存性アミド基転移酵素としては初めての構造であり、さらに、GatAサブユニットの活性部位において、グルタミンから遊離したアンモニウム基が活性残基と共有結合している、新規の中間状態構造であった。また、バクテリア由来のGatCABと比べ、サブユニットGatFがGatAサブユニットと特徴的な相互作用をしていることを明らかにした。さらに、日本チームで博士（理学）を取得した荒磯博士が、ポスドクとしてHubert博士の研究室に 2 年間留学し、GatFAB変異体の機能解析を推進し、GatFとGatAの相互作用が、Gln-$_{m}$tRNA^{Gln}へのアミド基転移活性に重要な役割を果たすことを解明し、現在、共同研究論文を投稿中である。

６－２　人的交流の成果

1. 2010 年 8 月 5-8 日に Strasbourg でキックオフミーティングを、2011 年 12 月 1-5 日に Strasbourg でプログレスミーティングを（当初日本で行う予定であったが、東北大震災と福島原発事故の影響を考慮し、フランスで行った）、2012 年 11 月 1-5 日に沖縄でプログレスミーティングを行い、学術面・文化面での交流を深め、潤滑な共同研究体勢を作った。
2. 日本チームの博士・修士課程の大学院生を、ストラスブールでのキックオフミーティング、プログレスミーティングに同行させ、英語で研究成果を発表させ、フランスチームとディスカッションさせることで、東京大学の大学院生の国際的人材の育成に大きな効果があったと考えられる。また、学術的なミーティングだけでなく、ソーシャルプログラムで、日本人大学院生とフランスチームのメンバーが交流することで、フランスの文化を吸収することになり、国際的人材育成に大きな効果があった。実際に、大学院生の 1 人、荒磯氏は、日本で学位を取得後、ポスドクとしてフランスチーム Hubert 研究室

のポスドクとなり、両チームの架け橋として、研究交流、共同研究に大きく貢献した。

3. 荒磯博士は、日本チームにおいて GatFAB の結晶構造解析、フランスチームにポスドクとして渡航してからは、GatFAB の機能解析を遂行し、発展的な成果を上げることに成功した。これこそ、本交流プログラムの模範的な形であり、荒磯博士の研究者としての人材育成に大きく貢献したと考えている。

７．主な論文発表・特許等（５件以内）
相手側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合：　著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合：　知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	"C-terminal domain of archaeal O-phosphoseryl-tRNA kinase displays large-scale motion to bind the 7-bp D-stem of archaeal tRNASec" R. L. Sherrer, Y. Araiso, C. Aldag, R. Ishitani, J. M. Ho, D. Söll and O. Nureki *Nucleic Acids Res.* 39, 1034-1041 (2010).	
論文	"Structural basis for nonribosomal peptide synthesis by an aminoacyl-tRNA synthetase paralog" L. Bonnefond, T. Arai, Y. Sakaguchi, T. Suzuki, R. Ishitani and O. Nureki *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 3912-3917 (2011).	
論文	"Structure and function of a membrane component SecDF that enhances protein export" T. Tsukazaki, H. Mori, Y. Echizen, R. Ishitani, S. Fukai, T. Tanaka, A. Perederina, D. G. Vassylyev, T. Kohno, A. D. Maturana, K. Ito and O. Nureki *Nature* 474, 235-238 (2011).	
論文	" Structure and function of Zucchini endoribonuclease in piRNA biogenesis" H. Nishimasu, H. Ishizu, K. Saito, S. Fukuhara, M. K. Kamatani, L. Bonnefond, N. Matsumoto, T. Nishizawa, K. Nakanaga, J. Aoki, R. Ishitani, H. Siomi, M. C. Siomi and O. Nureki *Nature* 491, 284-287 (2012)	
論文	"Crystal structure of Cex1p reveals the mechanism of tRNA trafficking between nucleus and cytoplasm." K. Nozawa, R. Ishitani, T. Yoshihisa, M. Sato, F. Arisaka, S. Kanamaru, N. Dohmae, D. Mangroo, B. Senger, H. D. Becker and O. Nureki *Nucleic Acids Res.* 41, 3901-3914 (2013)	