J S M *Mycotoxins*

www.jstage.jst.go.jp/browse/myco

Non-canonical function of tRNA synthetases from plants

Tetsuo Kushiro

JSM Mycotoxins, **68**(1):55-57 (2018)
<http://doi.org/10.2520/myco.68-1-9>

JSM Mycotoxins is issued twice a year, one volume a year, by the Japanese Society of Mycotoxicology and the purpose of the journal is to publish results and technical information regarding mycotoxins. *JSM Mycotoxins* publishes Reviews, original results (Research Papers, Technical Notes, Notes, and Letters), Proceedings of special lectures, symposia, and workshops of the meeting of Japanese Society of Mycotoxicology

Japanese Society of Mycotoxicology
(http://www.jsmyco.org/MYCONTENTS/Eng/index_eng.html)

植物由来アミノアシルtRNA合成酵素の第二の機能

久城 哲夫¹

¹ 明治大学農学部 (〒214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田1-1-1)

キーワード

アミノアシルtRNA合成酵素；コムギ；デオキシニバレノール (DON)

連絡先

久城 哲夫

電子メール：kushiro@meiji.ac.jp

(2017年12月13日受付)

要旨

アミノアシルtRNA合成酵素 (aaRS) は、20種類のアミノ酸と正しいtRNAとを結合させるアミノアシル化反応を触媒し、遺伝子のタンパク質への翻訳において重要な役割を担っている。近年、ヒトを含めた高等真核生物において、aaRSに本来のtRNAのアミノアシル化とは関係のない第二の機能が様々に存在していることが明らかになってきた。aaRSの二次機能とマイコトキシンの関連を示す論文が最近発表されたので、以下にその内容を紹介する。

1. アミノアシルtRNA合成酵素 (aaRS)

アミノアシルtRNA合成酵素 (aaRS) は、20種類のアミノ酸と正しいtRNAとを結合させるアミノアシル化反応を触媒し、生物のセントラルドグマにおいて遺伝暗号を成り立たせる中心的な役割を担っている。地球上の全ての生物は基本的に同一の遺伝暗号を用いており、aaRSは全生物の共通祖先 (LUCA) が誕生した生命のごく初期から存在していた最古の酵素の一つと考えられる。これまでに20種類のaaRSに関して、タンパク質の結晶構造、アミノ酸やtRNAなどの基質認識と触媒反応機構、間違ったアミノ酸を取り込んでしまった際の校正機能、aaRS遺伝子の分子進化など、酵素の構造や機能に関する膨大な研究が約半世紀に渡り蓄積されてきた。

2. aaRSの二次機能

しかし近年、ヒトを含めた高等真核生物において、このaaRSに本来のtRNAのアミノアシル化とは関係のない第二の機能が様々に存在していることが明らかになってきた¹⁾。例えば、ヒト由来チロシルtRNA合成酵素 (TyrRS) は、サイトカインとして機能し血管新生を促進する作用を有し²⁾、またトリプトファンtRNA合成酵素 (TrpRS) は、細胞接着因子カドヘリンと結合し血管新生を阻害する³⁾。TrpRSはさらに核へも移行し、PARP-1と結合することでp53によるガンの抑制シグナルを活性化する⁴⁾。一方、リジルトRNA合成酵素 (LysRS) は、マスト細胞の刺激によりリン酸化され核へ移行した

後、転写因子と相互作用することで免疫反応応答遺伝子の発現を誘導する⁵⁾。さらに、ロイシルtRNA合成酵素 (LeuRS) はロイシンのセンサーとしても機能し、mTORC1を介した栄養シグナル伝達を活性化する⁶⁾。また、グルタミルプロリルtRNA合成酵素 (Glu-ProRS) は脂肪組織において、インスリンのシグナルによりリン酸化され膜へ移行した後、脂肪酸の取り込みを促進し肥満に関与する⁷⁾。このようにaaRSの二次機能は多方面に渡り、aaRSを中心とした新たな生物学が現在、勃興しつつある。一方、植物においてもこのような二次機能の存在が示唆されているが、未だ報告例はほとんどなく、十分には研究されていない。

3. マイコトキシンとの関連

近年、このaaRSの二次機能とマイコトキシンの関連を示す論文が発表されたので、以下その内容を紹介する。

中国、華中農業大学のY.-C. Liaoらは⁸⁾、コムギ (*Triticum aestivum*) Z9株由来の培養細胞にDONを処理し、発現が上昇する遺伝子を網羅的に解析したところ、118遺伝子断片が見出された。その中で特にDONにより高い発現上昇を示した遺伝子に注目したところ、コムギのメチオニルトRNA合成酵素 (TaMetRS) であることが判明した。

全長配列をクローニングし、他の植物由来のMetRSと比較したところ同じ単子葉植物であるイネのMetRSと高い配列同一性を示した。クラスI aaRSに特徴的なATP結合領域であるHIGHやKMSKS

モチーフ、tRNAのアンチコドン結合ドメインなども保存されており、TaMetRSがきちんとaaRS活性を有することが示唆された。また、TaMetRSには核移行シグナルと推定されるアミノ酸配列がC末端側に存在していた。さらに、TaMetRS遺伝子が植物体においてもDON処理により発現上昇するのかを確かめるためリアルタイムPCRで解析を行ったところ、Z9株とS3株においてDON処理後4時間で20-40倍の上昇がみられ、24時間後で最大の600-700倍に達し、48時間後には減少した。

次に、DONを生産するフザリウム菌 (*Fusarium graminearum*) 5035株とDON非生産菌であるTri5-株を、コムギZ9およびS3株に感染させ、TaMetRS遺伝子の発現誘導を調べた。その結果、5035株を感染させたコムギにおいて、感染後48-96時間にわたり著しい発現上昇がみられたが、Tri5-株ではみられなかった。TaMetRSの細胞内局在を調べるため、GFPとの融合タンパク質をタマネギの表皮細胞にて一過的に発現させたところ、GFP蛍光が核にのみ観察されたことから、TaMetRSは核に局在していることが判明した。

さらに、TaMetRSがDONに対する抵抗性を有するのかどうかを調べるため、TaMetRS遺伝子をシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) に組込んだ形質転換植物体を作製し、DONやフザリウム菌に対する抵抗性を調べた。TaMetRS遺伝子は35S CaMVプロモーターを用いて全植物体で恒常的に過剰発現させた。その結果、DONは野生株の根の伸長を濃度依存的に阻害したが、形質転換体ではこの阻害が有意に抑制された。一方、フザリウム菌5035株をこれら植物体に接種したところ、形質転換体は野生株に比べて著しい感染抵抗性を示した (感染の度合いは*Fusarium-Arabidopsis* Disease valueにより評価)。

以上の結果より、コムギのTaMetRS遺伝子はフザリウム菌が生産するDONにより発現が誘導され、TaMetRSは核へ局在することが示唆された。さらに、TaMetRSの高発現はフザリウム菌への感染抵抗性を付与ことが明らかとなった。

通常、aaRSは細胞質で機能しtRNAのアミノアシル化を触媒するが、TaMetRSは配列中に核移行シグナルと推定される配列が存在していたことから、核において何らかの二次機能を有していることが考えられる。実際、ヒト由来MetRSにも核移行シグナル配列が存在し、核に移行してリボソームRNA (rRNA) の転写を促進することが報告されている⁹⁾。DONの毒性の標的がリボソームのペプチド合成阻害であることを考慮すると、核に移行したTaMetRS

がrRNAの転写を促進し、リボソームの量を増やすことでDONに対する抵抗性を獲得していることが推察される。詳細なメカニズムの解明は今後の研究を待たねばならないが、コムギがこのようなDONに対する抵抗応答機構を有していること、TaMetRSが異種植物においてもフザリウム菌への感染抵抗性を付与できることは大きな発見である。また、これまでほとんど明らかになっていない植物由来aaRSの二次機能に関しても、TaMetRSが核において何らかの機能を有している可能性が示されたことは大きな成果である。筆者の研究室においても現在、植物由来aaRSの二次機能の探索を行っているが、今後、植物においても様々な二次機能が発見され、植物特有の機能が明らかになっていくことが期待される。

引用文献

- 1) Guo, M.; Schimmel, P.: Essential nontranslational functions of tRNA synthetases. *Nat. Chem. Biol.*, **9**, 145-153 (2013)
- 2) Wakasugi, K., Slike, B. M., Hood, J., Ewalt, K. L., Cheresch, D. A., Schimmel, P.: Induction of angiogenesis by a fragment of human tyrosyl-tRNA synthetase. *J. Biol. Chem.*, **277**, 20124-20126 (2002)
- 3) Zhou, Q., Kapoor, M., Guo, M., Belani, R., Xu, X., Kiosses, W. B., Hanan, M., Park, C., Armour, E., Do, M. -H., Nangle, L. A., Schimmel, P., Yang, X. -L.: Orthogonal use of a human tRNA synthetase active site to achieve multifunctionality. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 57-61 (2010)
- 4) Sajish, M., Zhou, Q., Kishi, S., Valdez, D. M. Jr., Kapoor, M., Guo, M., Lee, S., Kim, S., Yang, X. -L., Schimmel, P.: Trp-tRNA synthetase bridges DNA-PKcs to PARP-1 to link IFN- γ and p53 signaling. *Nat. Chem. Biol.*, **8**, 547-554 (2012)
- 5) Ofir-Birin, Y., Fang, P., Bonnett, S. P., Zhang, H. -M., Wang, J., Rachmin, I., Shapiro, R., Song, J., Dagan, A., Pozo, J., Kim, S., Marshall, A. G., Schimmel, P., Yang, X. -L., Nechushtan, H., Razin, E., Guo, M.: Structural switch of lysyl-tRNA synthetase between translation and transcription. *Mol. Cell*, **49**, 30-42 (2013)
- 6) Han, J.M., Jeong, S. J., Park, M. C., Kim, G., Kwon, N. H., Kim, H. K., Ha, S. H., Ryu, S. H., Kim, S.: Leucyl-tRNA synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. *Cell*, **149**, 410-424 (2012)
- 7) Arif, A., Terenzi, F., Potdar, A. A., Jia, J., Sacks, J., China, A., Halawani, D., Vasu, K., Li, X., Brown, J. M., Chen, J., Kozma, S. C., Thomas, G., Fox, P. L.: EPRS is a critical mTORC1-S6K1 effector that

- influences adiposity in mice. *Nature*, **542**, 357-361 (2017)
- 8) Zuo, D. -Y., Yi, S., Liu, R. -J., Qu, B., Huang, T., He, W. -J., Li, C., Li, H. -P., Liao, Y. -C.: A deoxynivalenol-activated methionyl-tRNA synthetase gene from wheat encodes a nuclear localized protein and protects plants against *Fusarium* pathogens and mycotoxins. *Phytopathology*, **106**, 614-623 (2016)
- 9) Ko, Y. G., Kang, Y. S., Kim, E. K., Park, S. G., Kim, S.: Nucleolar localization of human methionyl-Trna synthetase and its role in ribosomal RNA synthesis. *J. Cell Biol.*, **149**, 567-574 (2000)

Non-canonical function of tRNA synthetases from plants

Tetsuo Kushiro¹

¹School of Agriculture, Meiji University, 1-1-1 Higashimita, Tama-ku, Kawasaki, Kanagawa 214-8571, Japan

Aminoacyl-tRNA synthetases (aaRSs) play a vital role in protein translation, establishing the genetic code by catalyzing an attachment of amino acids to their cognate tRNAs. Now, novel non-canonical functions of aaRSs have begun to emerge, uncovering numerous roles of aaRSs in higher eukaryotes, such as cancer signaling, immune response, and nutrition signaling. A recent study summarized in this report demonstrated a relationship between plant aaRS and a mycotoxin DON.

Keywords: aminoacyl-tRNA synthetase; deoxynivalenol (DON); wheat