

文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、
名古屋教育医療記者会と同時発表

タンパク質合成装置リボソームの生合成メカニズムを解明

～リボソームタンパク質 mRNA のポリ A 鎖長で制御～

米国科学誌『Cell Reports (セル・レポート)』電子版に
2022年10月25日午前11時(米国東部時間)掲載
(日本時間10月26日午前0時)

名古屋市立大学大学院薬学研究科の星野真一教授、尾上耕一助教(現名古屋大学)は、第3世代のシークエンス技術であるナノポアシークエンサー¹を用いて mRNA² のポリ A 鎖長を解析する実験系を新たに開発し、(1)リボソーム³ タンパク質 mRNA の3'末端ポリ A 鎖が長いほど、その翻訳⁴ (タンパク質合成) の活性が高いことを証明しました。また、(2)リボソームタンパク質 mRNA のポリ A 鎖⁵ がアミノ酸飢餓⁶ 時に伸長し、これがアミノ酸飢餓回復時のリボソーム生合成と速やかな翻訳再開を可能にしていることを証明しました。本研究成果は、米国科学誌『Cell Reports (セル・レポート)』電子版に2022年10月25日午前11時(米国東部時間)、(日本時間10月26日午前0時)に掲載されました。

【本研究成果のポイント】

- ・第3世代のシークエンス技術であるナノポアシークエンサーを用いて mRNA のポリ A 鎖長を解析する実験系を新たに開発した。
- ・ナノポアシークエンサーを用いた細胞内 mRNA のグローバルな解析により、リボソームタンパク質の合成は、その mRNA(TOP mRNA)の3'末端ポリ A 鎖の長さとの正の相関があることをはじめて証明した。
- ・リボソームタンパク質をコードする TOP mRNA は、mRNA 全体のおよそ30%を占めるが、アミノ酸飢餓時に RNA 結合タンパク質 LARP1 によってポリ A 鎖が伸長する。
- ・アミノ酸飢餓時のポリ A 鎖伸長は、飢餓からの回復時のリボソーム生合成と速やかな翻訳再開を可能にする。

【背景】

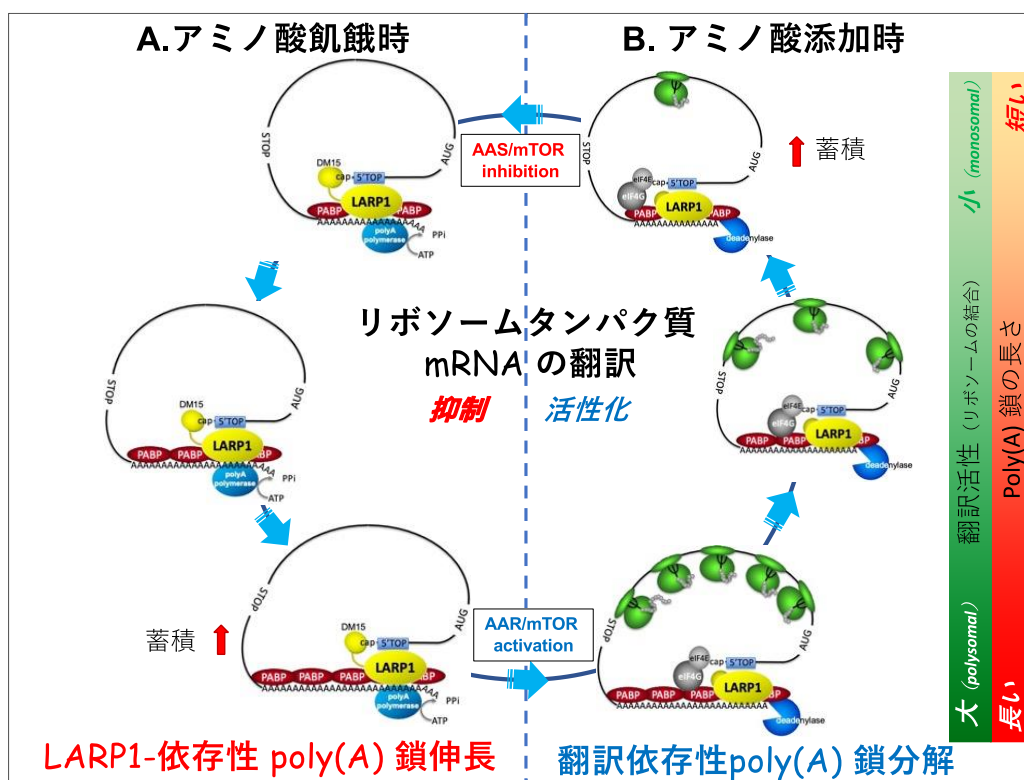
発生の初期過程においては、転写がおこらず遺伝子発現は mRNA の3'末端に付加されたポリ A 鎖の長さによって制御されることが知られています。すなわ

ち、ポリ A 鎖が長いとその mRNA の翻訳が活性化されタンパク質が作られますが、ポリ A 鎖が短いとタンパク質の合成が停止します。体細胞においてもそのようなポリ A 鎖の長さとの間には関連性があると信じられてきました。ところが、最近次世代シーケンサーを用いたハイスループット解析から体細胞においてはそのような相関がないとする論文が相次いで報告されました。

【研究成果の内容】

研究チームは、PCR による増幅によってポリ A 鎖の分布に偏りが生じる危険性のある次世代シーケンサーの代わりに、mRNA のポリ A 鎖を増幅することなく直接解析できるナノポアシーケンサーを用いてポリ A 鎖長を測定する技術を新たに開発しました。これを用いて解析した結果、生体内のおよそ 30% を占めるリボソームタンパク質等の mRNA (TOP mRNA⁷) においてポリ A 鎖長と翻訳との間に明確な正の相関を見出しました。これまで、「発生の初期過程において解明されたポリ A 鎖と翻訳との相関が、体細胞においても成立するか」という点が大きな争点になっていましたが、本研究成果は相関があるとする考えを明確に証明しました。

また、同シーケンサーを用いたグローバルな解析等から、TOP mRNA のポリ A 鎖は、アミノ酸飢餓時に RNA 結合タンパク質 LARP1 に依存して伸長することも明らかにしました。すなわち、LARP1 がその標的である TOP mRNA に対してポリ A ポリメラーゼをリクルートすることで、ポリ A 鎖が伸長すると考えられます。このような、アミノ酸飢餓時のポリ A 鎖伸長は、飢餓からの回復時に TOP mRNA のすみやかな翻訳を可能にし、その結果リボソームの生合成と翻訳がすみやかに再開することを明らかにしました (図)。



図：アミノ酸の栄養状態に依存したリボソーム生合成反応のモデル

アミノ酸飢餓状態では、mTOR⁸ が不活性化し、LARP1 は脱リン酸化されて mRNA の 5'末端キャップ構造に結合することでリボソームタンパク質 mRNA の翻訳が抑制されます。この条件下、リボソームタンパク質 mRNA のポリ A 鎖が LARP1 依存的に伸長し、ポリ A 鎖の長い mRNA が蓄積します。一方、アミノ酸添加時には、mTOR が活性化し、LARP1 がリン酸化されてキャップ構造から解離するため、翻訳開始因子が代りに結合して翻訳が再開します。この条件下では、mRNA ポリ A 鎖と翻訳（リボソームの結合）は正に相関するので、ポリ A 鎖が伸長したリボソームタンパク質の mRNA には、数多くのリボソームが会合し翻訳されます。このように、リボソームタンパク質 mRNA は効率良く翻訳されて、リボソーム合成と飢餓回復時の翻訳再開に大きく貢献します。また、このときリボソームタンパク質 mRNA のポリ A 鎖は翻訳依存的に分解・短縮化します。

これまでリボソームタンパク質 mRNA(TOP mRNA)の翻訳効率が高いことはよく知られていましたが、今回研究チームは、アミノ酸飢餓時に TOP mRNA 3'末端ポリ A 鎖が伸長することをはじめて解明し、このポリ A 鎖伸長が飢餓回復時の翻訳活性化に大きく寄与していることを証明しました。

【今後の展開】

本研究では、生体内のおよそ 30%を占めるリボソームタンパク質等の mRNA (TOP mRNA) について、mRNA ポリ A 鎖長と翻訳の正の相関を見出し、実際にポリ A 鎖の伸長反応がリボソームタンパク質の合成に不可欠な役割を果たしていることを証明しました。また、リボソームタンパク質の mRNA だけでなく、ミトコンドリアの mRNA についても同様な正の相関を見出しており、今回のシーケンスで解析できなかった因子も含めると細胞内の大部分の mRNA について翻訳におけるポリ A 鎖の重要性が今後明らかにされていくものと予想されます。

日本医療研究開発機構 (AMED) 肝炎等克服実用化研究事業「B 型肝炎創薬実用化等研究事業：B 型肝炎ウイルスの排除を可能とするゲノム編集治療の実用化に向けた包括的な研究」では、B 型肝炎の根治治療を目的として、患者の肝臓にインテグレートされている HBV ウイルス DNA を、ゲノム編集を使って切断破壊することを計画しており、その際に用いる人工 mRNA の発現効率を上げることが急務となっています。リボソームタンパク質の mRNA に存在する TOP 配列は、mRNA 医薬⁹として用いる人工 mRNA の翻訳効率化に有効であることが明らかにされていますが、どのような条件下に mRNA の翻訳を効率化できるのかについては不明でした。今回の研究成果により、アミノ酸の栄養状況 (mTOR の活性状態) を操作することで、TOP mRNA のポリ A 鎖と翻訳を制御できることを明らかにしたことで、今後は mRNA 医薬の翻訳効率化技術に本研究成果の知見が応用されることが期待されます。

【用語解説】

1. ナノポアシーケンサー：PCRによる増幅を基本としたシーケンス解析技術である次世代シーケンサーに対して、そのような増幅なしに DNA/RNA の配列を直接解析する第3世代のシーケンス技術
2. mRNA：遺伝子 DNA の遺伝情報に基づいて転写によって合成され、翻訳によってタンパク質を作り出す鋳型 RNA
3. リボソーム：mRNA を鋳型にしてタンパク質を作り出すタンパク質合成装置。
4. 翻訳：mRNA を鋳型にしてタンパク質を作り出す反応であり、生体内においてはリボソームによって反応が触媒される。
5. ポリ A 鎖：mRNA の 3'末端に付加されている構造であり、mRNA の安定性と翻訳の2つの過程において、転写後の遺伝子発現に大きく寄与している。
6. アミノ酸飢餓：アミノ酸が枯渇した状態にすること。
7. TOP mRNA：5'末端にオリゴピリミジン(TOP)配列を有する mRNA であり、リボソームタンパク質や翻訳因子などを主体とする mRNA が含まれる。
8. mTOR：細胞の増殖や成長を制御する司令塔としてはたらくタンパク質リン酸化酵素（キナーゼ）複合体であり、アミノ酸などの栄養状態に応答して、細胞内のタンパク質合成（翻訳）を制御する。
9. mRNA 医薬：生体成分である mRNA を人工的に合成し、これを生体内に投与することで生体にとって好ましいタンパク質を作り出す次世代の医薬

【原著論文】

米国科学誌『Cell Reports (セル・レポート)』

論文タイトル：mTOR- and LARP1-dependent regulation of TOP mRNA poly(A) tail and ribosome loading (mTOR と LARP1 に依存した TOP mRNA ポリ A 鎖とリボソーム会合の制御)

著者：Koichi Ogami, Yuka Oishi, Kentaro Sakamoto, Mayu Okumura, Ryota Yamagishi, Takumi Inoue, Masaya Hibino, Takuto Nogimori, Natsumi Yamaguchi, Kazuya Furutachi, Nao Hosoda, Hiroto Inagaki, Shin-ichi Hoshino*

研究施設：名古屋市立大学

【謝辞】

本研究は日本医療研究開発機構（AMED）肝炎等克服実用化研究事業「B型肝炎創薬実用化等研究事業：B型肝炎ウイルスの排除を可能とするゲノム編集治療の実用化に向けた包括的な研究」（22fk0310515s0401）の助成をうけ、JSPS 科学研究費補助金基盤研究(B)(JP20H03635 and JP21H02406)、若手研究（JP20K15719 and 22K06925）、武田科学振興財団の支援により行われました。

【お問い合わせ先】

《研究全般に関するお問い合わせ先》

名古屋市立大学大学院薬学研究科

教授 星野真一

〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

Tel: 052-836-3427 Fax: 052-836-3427

E-mail: hoshino@phar.nagoya-cu.ac.jp

《広報に関するお問い合わせ先》

名古屋市立大学 総務部広報室広報係

名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

TEL : 052-853-8328 FAX : 052-853-0551

E-mail : ncu_public@sec.nagoya-cu.ac.jp