



東北大学
TOHOKU UNIVERSITY



2020年4月17日
東北大学
ミュンヘン大学
ケースウェスタンリザーブ大学
日本医療研究開発機構

mRNAの安定性を決定する新たな分子機構の発見 ～遺伝子発現の根幹を監視する新たな仕組み～

【発表のポイント】

- 様々な疾患の原因となるメッセンジャー(伝令)RNA(mRNA)の安定性を決定するコドン(遺伝暗号)の最適度は、mRNAの分解に関与するCcr4-Not複合体によって監視されていることを、遺伝学・生化学的な機能解析によって証明しました。
- クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析によって、Ccr4-Not複合体とリボソームの結合様式を明らかにしました。
- Ccr4-Not複合体は、発生・細胞分化や癌、炎症に寄与することが報告されており、今回の研究成果は、これまで原因不明とされてきた幅広い疾患の発症機構の解明につながることを期待されます。

【概要】

個々の mRNA がもつ固有の安定性は、コドンの最適度によって調節されていることが報告され、最適度が高いコドンを持つ mRNA ほど安定であり、最適度が低いコドンを持つ mRNA は不安定であるという一般則が確立されています。mRNA の安定性制御は遺伝子発現の根幹であり、その破綻は様々な疾患の原因になります。しかし、コドンの最適度によって調節される翻訳の伸長速度を監視し、個々の mRNA がもつ固有の安定性を決定する機構は不明でした。東北大学大学院薬学研究科の稲田利文教授、松尾芳隆助教とドイツミュンヘン大学 Roland Beckmann 教授、ケースウェスタンリザーブ大学の Jeff Coller 教授らの研究グループは、mRNA の安定性を決定する新たな分子機構を発見しました。今回の研究成果は、これまで原因不明とされてきた幅広い疾患の発症機構の解明につながることを期待されます。

本研究成果は、2020年4月17日(金曜日)に米国科学誌『Science』に掲載されます。本研究は、文部科学省科学研究費補助金(基盤研究(A)、(C)、新学術領域研究「ケモテクノロジーが拓くユビキチンニューフロンティア」)、日本医療研究開発機構の革新的先端研究開発支援事業(AMED-CREST)「全ライフコースを対象とした個体の機能低下機構の解明」、(公財)武田科学振興財団、(公財)加藤記念バイオサイエンス振興財団の研究助成により実施しました。

研究の背景

ゲノム DNA^{注1}にコードされた遺伝情報は、mRNA^{注2}に転写され、リボソーム^{注3}によってアミノ酸(タンパク質)に変換されることで、遺伝子を発現します。細胞はストレスや環境変化などに対応するため、細胞内の mRNA 量を調節することで遺伝子発現を制御しています。mRNA の量は合成(転写)と分解の割合で決まっており、発現量の多い遺伝子をコードする mRNA は、合成量が多いだけでなく、より安定であること(半減期が長い)が知られていました。

mRNA にコードされる遺伝情報は、リボソームによってタンパク質へと変換されます(翻訳)。この際、リボソームは mRNA 上の 3 つの塩基配列を1つの読み枠(コドン^{注4})として遺伝情報を解読しますが、ほとんどのアミノ酸は複数種類のコドンによってコードされています。同じアミノ酸に対応するそれぞれのコドンは同義コドン^{注5}とよばれ、対応する tRNA^{注6}の細胞内存在量には偏りがあります。多く使われるコドンは最適コドンと呼ばれ、同義コドンが最適かどうかは、対応する tRNA の存在量に従って数値化され、tRNA 量が高いほど最適度高いと評価されます。従って、最適度高いコドンが多い mRNA を翻訳するときの伸長速度は速くなり、合成されるタンパク質も多いことが知られています。翻訳の伸長速度は発現量の調節だけでなく、合成されるペプチド鎖のフォールディング^{注7}やターゲティング^{注8}などとも密接に連動しているため、コドンの選択は遺伝子発現において非常に重要な役割を担っています。

近年、個々の mRNA がもつ固有の安定性は、コドンの最適度によって調節されていることが報告され、最適度高いコドンを持つ mRNA ほど安定であり、最適度が低いコドンを持つ mRNA は不安定であるという一般則が確立されました。最適度高いコドンを持つ mRNA ほど翻訳の伸長速度が早いいため、コドンの最適度によって mRNA の半減期が決定されることとなります。一方で、コドンの最適度によって調節される翻訳の伸長速度を監視し、個々の mRNA がもつ固有の安定性を決定する機構は依然として不明なままでした。

研究の概要

mRNA の転写・分解や翻訳抑制に関与する Ccr4-Not 複合体^{注9}は、RNA 結合タンパク質を介して mRNA に結合することが広く知られていますが、本研究グループは、はじめに生化学的手法を用いて、Ccr4-Not 複合体がリボソームに直接結合することを見いだしました。続いて、Ccr4-Not 複合体が特異的に結合するリボソームによって翻訳される mRNA の特徴を調べるために、選択的リボソームプロファイリング^{注10}による網羅的解析を行いました。その結果、コドンレベルの解析では、Ccr4-Not 複合体とリボソームの親和性がコドンの最適度と非常に強い逆相関を示すことがわかりました。(図 1)

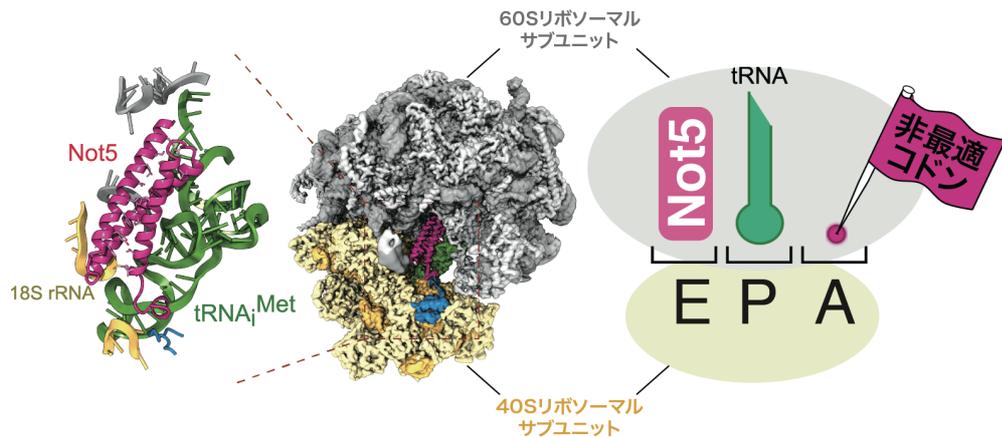


図 2 Not5 とリボソームの結合様式

左図:クライオ電子顕微鏡^{注12}を用いた Ccr4-Not 複合体と A 部位に tRNA を含まないリボソームの単粒子解析。Ccr4-Not 複合体の構成タンパク質の1つである Not5 が、リボソームの E 部位に結合している。ピンクは Not5 のアミノ末端領域、緑は tRNA、黄色は 40S リボソームサブユニット、灰色は 60S リボソームサブユニットを示す。

右図:リボソームの A 部位に非最適コドンが存在する場合、Not5 が E 部位に結合することで mRNA の分解を引き起こす。

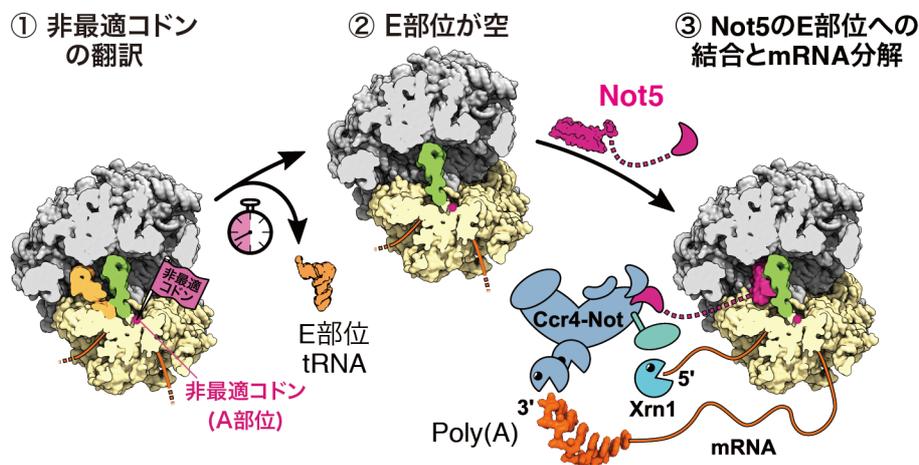


図 3 コドンの最適度に依存した mRNA の分解制御機構モデル

- ① 非最適コドンが A 部位に位置したリボソーム。tRNA の存在量が少ないため、A 部位に tRNA が結合するまでの時間が長い。
- ② A 部位に tRNA が結合しないため、E 部位から tRNA が解離する。
- ③ Ccr4-Not 複合体の Not5 サブユニットの N 末端領域が E 部位に結合する。リボソームに結合した Ccr4-Not 複合体がポリ A を短鎖化する。さらにキャップ構造の除去後にリボヌクレアーゼ Xrn1 が mRNA を分解する。ピンクは Not5 のアミノ末端領域、マゼンダは E 部位に結合した tRNA、緑は P 部位に結合した tRNA、黄色は

40S リボソームサブユニット、灰色は 60S リボソームサブユニット、オレンジは mRNA を示す。

社会的意義と今後の展望

遺伝子の発現制御は生命の根幹であり、その分子機構を理解することは、様々な生命現象、あるいは幅広い疾患の病態の理解につながります。細胞は、絶えずストレスや環境の変化に適応するため、細胞内の mRNA 量を制御しています。その制御は、mRNA の合成(転写)と分解によって行われており、それぞれが協調的に機能することが重要です。本研究により、コドンの最適化による mRNA の分解制御機構の実態が明らかになり、長年不明であった遺伝情報における同義コドンの存在意義がより明確になりました。

タンパク質合成途中の翻訳速度調節の異常は、タンパク質の機能に重大な欠陥を引き起こし、タンパク質恒常性の破綻につながります。タンパク質恒常性の破綻は、不良タンパク質の蓄積やオルガネラの損傷、シグナル伝達経路のかく乱など、広範な細胞機能の障害を引き起こすため、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患や老化の原因になると考えられます。今回の研究成果は、翻訳異常によって機能欠損タンパク質が合成されることで発症する疾患の発症機構や老化のメカニズムを理解するための基盤になることが期待されます。

用語説明

- 注1) ゲノム DNA: 各種生物がもつ遺伝情報が全て含まれる DNA セット。
- 注2) mRNA: メッセンジャーRNA の略で日本語では伝令 RNA。タンパク質合成の設計図となる遺伝情報を持つ RNA。
- 注3) リボソーム: mRNA のもつ遺伝情報に従ってアミノ酸同士を結合させ、タンパク質を合成する装置。タンパク質と RNA から構成される巨大な複合体であり、tRNA と結合する A、P、E 部位をもつ。
- 注4) コドン: mRNA の塩基配列からタンパク質を構成するアミノ酸配列へ翻訳される際、リボソームの A 部位によって認識される連続した 3 つの塩基配列。
- 注5) 同義コドン: 同じアミノ酸に対応する複数のコドン。アミノ酸は 20 種類でコドンは 64 種類。コドンの数がアミノ酸より多いため、ほとんどのアミノ酸には対応するコドンが複数存在する。
- 注6) tRNA: トランスファーRNA の略で日本語では運搬 RNA。mRNA のコドンに対応するアンチコドンを持ち、特定のアミノ酸と結合し、リボソームによる翻訳過程においてアミノ酸を供給する。
- 注7) ペプチド鎖のフォールディング: 翻訳反応によって合成されたアミノ酸が結合したポリペプチド鎖が立体構造に折りたたまれる現象。タンパク質が機能を獲得するには、正しい立体構造を形成する必要がある。
- 注8) ターゲティング: 細胞内でタンパク質が機能する特定の場所へ輸送されること。膜タンパク質などは、共翻訳的に小胞体へと輸送される。
- 注9) Ccr4-Not 複合体: 酵母からヒトまで保存されたタンパク質複合体。遺伝子発現調節因子として転写調節や mRNA の分解に関与する。
- 注10) リボソームプロファイリング: 翻訳中のリボソームが結合する mRNA 領域を次世代シーケンスによって網羅的に解析する方法。mRNA 上でリボソームが翻訳する様子をスナップショットとして可視化することができる。
- 注11) コドン-アンチコドン: mRNA がもつコドンと tRNA がもつアンチコドンによる塩基対形成。翻訳過程では、コドンとアンチコドンの塩基対形成によって正しい tRNA (アミノ酸) を認識する。
- 注12) クライオ電子顕微鏡: 試料を低温 (液体窒素と同程度) のまま観察できる装置を備えた高性能な透過型電子顕微鏡。