

2023年02月17日
東京大学医科学研究所
東京大学大学院理学系研究科
東京大学大学院新領域創成科学研究科

非典型翻訳反応における翻訳因子 eIF5A の機能の解明

——mRNA を必要とせずにペプチド合成反応を行う仕組み——

発表のポイント

- ◆クライオ電子顕微鏡を用いて翻訳因子 eIF5A の新生鎖複合体への結合の可視化に成功しました。
- ◆新生鎖複合体に eIF5A が結合してペプチド結合反応に関与することを明らかにし、CAT テイリング反応に関与する因子として世界で初めて同定しました。
- ◆本成果は、翻訳が活発な神経系、特に筋肉の運動に必須な神経筋の異常が原因とされる神経筋疾患の発症機構の解明や創薬基盤の確立につながることで期待されます。



発表概要

東京大学 医科学研究所 RNA 制御学分野／大学院理学系研究科生物科学専攻／大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命専攻の稲田利文教授と海老根修平学術専門職員、ミュンヘン大学 Gene Center の Petr Tesina と Roland Beckmann 教授のグループは、翻訳因子 eIF5A が非典型翻訳 CAT テイリング反応を促進することを世界で初めて解明しました。

リボソーム（注1）は mRNA 上の遺伝暗号を解釈し、対応する tRNA（注2）を取り込むことでタンパク質を合成します。通常タンパク質の合成反応では、リボソームの構造変化が常時行われており、GTPase（注3）と呼ばれるエネルギー源の供給がこの反応を可能にしています。生体内では Nonstop mRNA（注4）のような異常な mRNA がリボソームの停滞およびリボソーム間の衝突を引き起こします。しかし、品質管理機構が衝突したリボソームを解離させ、合成途中のペプチド鎖の分解を誘導することで速やかに対処しています。

品質管理因子である Rqc2 は解離したリボソームの大サブユニットに結合し、mRNA や GTPase が存在しないのにも関わらず、合成途中のタンパク質の C 末端側に CAT テイル（注5）と呼ばれる特殊な配列を付加することが知られています。これまで CAT テイルは合成途中のタンパク

質の分解促進や CAT テイル自身が分解の目印として働くといった生理的機能の解析は行われてきましたが、CAT テイリング反応の分子機構は十分に理解されていませんでした。

クライオ電子顕微鏡（注 6）を用いた構造解析と遺伝学的手法による機能解析によって eIF5A が CAT テイリング反応の促進因子としての役割を担うことを発見し、eIF5A の結合が CAT テイリング反応に必須なリボソームの構造変化の引き金として働くことを見出しました。

本成果は、翻訳が活発な神経系、特に筋肉の運動に必須な神経筋の異常が原因とされる経筋疾患の発症機構の解明や創薬基盤の確立につながることで期待されます。

本研究成果は 2 月 16 日、米国科学誌「*Molecular Cell*」に掲載されました。

発表内容

〈研究の背景〉

細胞内において一定の頻度で産生される異常な mRNA 上をリボソームが翻訳すると、タンパク質の元となるペプチド鎖が正しく合成されず、細胞に悪影響を示します。しかし、我々の体に異常が見られないのは、翻訳品質管理機構が異常性を認識・解消しているからです。品質管理機構の 1 つである RQC (Ribosome-associated Quality Control) は、リボソームの異常な翻訳停滞を認識し、合成途中の新生ペプチド鎖の分解を誘導することが知られています（図 1）。最近では、神経疾患患者において RQC 関連因子の異常が複数確認されています。

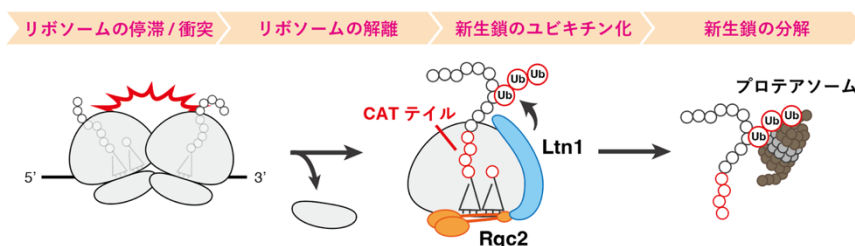


図 1. 翻訳品質管理機構 RQC の概要

異常な mRNA 上で停滞したリボソームと後続するリボソームの衝突が RQC の引き金となり、解離因子がリボソームを大サブユニット-新生ペプチド鎖複合体（以後、新生鎖複合体）と小サブユニットに解離します。新生鎖複合体にはユビキチン化酵素 Ltn1 と Rqc2 が結合しており、Ltn1 が新生ペプチド鎖をユビキチン化することで、ユビキチン-プロテアソーム系（注 8）によって分解されます。

通常の翻訳伸長反応とは異なり、Rqc2 は mRNA やエネルギー源となる GTPase が存在しないにも関わらず、合成途中のペプチド鎖の C 末端側に CAT テイルと呼ばれるアラニンとスレオニンのみからなるランダムなペプチド配列を付加する機能が報告されています（図 2）。Rqc2 は CAT テイルを新生ペプチド鎖の C 末端側に付加することで Ltn1 がユビキチン化を行いやすくし、新生ペプチド鎖の分解効率を向上させる働きを担うことが次第に明らかになってきました。

一方で CAT テイリング反応が従来の翻訳形態とは異なるペプチド合成反応であることから、分子機構に不明な点が多く残されたままでした。

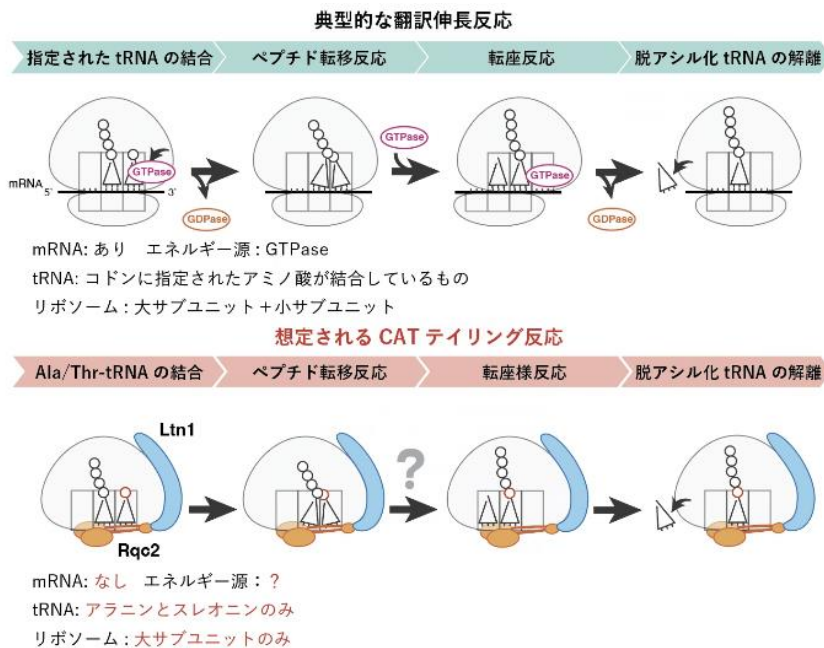


図 2. 典型翻訳機構と CAT テイリングの相違点

〈研究の内容〉

本研究では、クライオ構造解析によって翻訳因子 eIF5A の新生鎖複合体への結合と Rqc2 の柔軟な動態が CAT テイリング反応の進行に必須であることを明らかにしました。

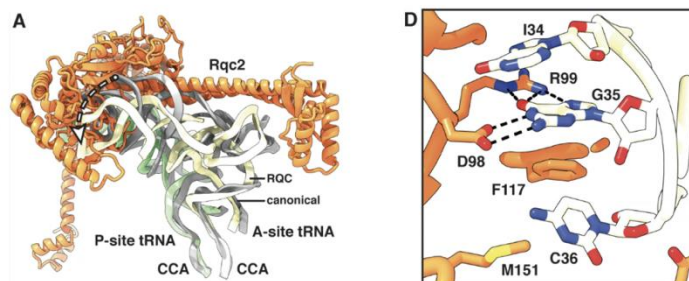


図 3. Rqc2 の tRNA 選択特異性

Rqc2 と tRNA のアンチコドンループ内の塩基間で強固な水素結合が形成されている

CAT テイリング反応の初期段階である tRNA のリクルートで観察される Rqc2 の tRNA に対する結合特異性を確認したところ、Rqc2 と tRNA アンチコドンループの間で強固な水素結合が生成されていることに起因していることが分かりました (図 3)。

構造解析結果より確認された eIF5A はリボソームの停滞を感知するとリボソームの E-site に結合して翻訳停滞を解消することが報告されていましたが、解離後の大サブユニットに結合する機能はいままで報告されていませんでした。

そこで、研究チームは遺伝学的手法を用いて CAT テイリング反応における eIF5A の機能を調べたところ、eIF5A に伴うリボソーム RNA との相互作用の変化がリボソームの構造変化の引き金となり、CAT テイリング反応のペプチド伸長反応に重要であることを明らかにしました (図 4)。

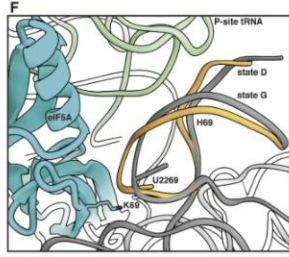


図 4. 翻訳因子 eIF5A の結合に伴う構造変化

eIF5A の結合がリボソーム RNA の構造を変化させ
CAT テイリング反応の進行の引き金になる

加えて、ペプチド転移反応後の構造において Rqc2 の密度低下が観察されることから、脱アシル化された tRNA の解離には Rqc2 の不安定化が重要であることが示唆されました。

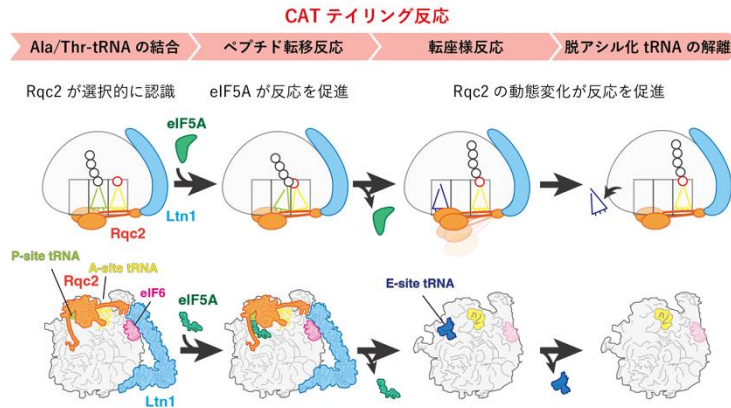


図 5. 本研究結果をもとにした CAT テイリング反応の概要

本研究結果より、mRNA と GTPase 非依存の CAT テイリング反応は、Rqc2 と eIF5A の二つの因子が協力して行われることが明らかになりました（図 5）。

〈社会的意義・今後の予定〉

Rqc2 はさまざまな細胞種で保存されており、ヒトでは NEMF と呼ばれるタンパク質として保存されており、CAT テイリング機能を有していることを当研究室より報告しています。NEMF の変異は神経変性を引き起こし、神経筋疾患患者でも確認されることから主機能である CAT テイリング反応は神経形成過程の翻訳に非常に重要な役割を果たしていると想定されます。

本成果は神経筋疾患の発症分子機構解明の新たな糸口を示すものであり、新たな治療法の開発につながることを期待されます。

発表者

東京大学大学院医科学研究所

稲田 利文（教授）〈基礎医科学部門 RNA 制御学分野／大学院理学系研究科生物科学専攻／
大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命専攻 RNA 制御学分野〉

海老根 修平（学術専門職員）〈基礎医科学部門 RNA 制御学分野〉

ドイツミュンヘン大学 Gene Center

Roland Beckmann（教授）

Petr Tesina（博士研究員）

論文情報

〈雑誌〉 「Molecular Cell」(2月16日付けオンライン版)

〈題名〉 Molecular basis of eIF5A-dependent CAT tailing in eukaryotic ribosome-associated quality control

〈著者〉 Petr Tesina^{†*}, Shuhei Ebine[†], Robert Buschauer[†], Matthias Thoms, Yoshitaka Matsuo, Toshifumi Inada* and Roland Beckmann*

[†]共同第一著者

*共同責任著者

〈DOI〉 doi.org/10.1016/j.molcel.2023.01.020

〈URL〉 <http://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.01.020>

研究助成

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED-CREST 課題番号：JP 20gm1110010、研究代表者：稲田利文）、日本学術振興会科学研究費助成事業（課題番号：19H05281, 21H05277, 22H00401、稲田利文；21H00267, 21H05710, 22H02606、松尾芳隆）、科学技術振興機構（JST）さきがけ（課題番号：JPMJPR21EE、研究代表者：松尾芳隆）などの支援を受けて行われました。

用語解説

（注1）リボソーム

リボソームタンパク質とリボソーム RNA（rRNA）から構成される巨大な複合体装置。mRNA にコードされている遺伝暗号（コドン）に従ってアミノ酸を結合させ、タンパク質を合成する。主に大小二つのサブユニットで構成されている。

（注2）tRNA

トランスファーRNA の略で日本語では転移 RNA。タンパク質合成の際にコドンに対応するアミノ酸をリボソームに運ぶ RNA。

（注3）GTPase

GTP を GDP に加水分解する酵素。加水分解時に生じるエネルギーはリボソームの構造変化に使用される。

(注4) Nonstop mRNA

通常の mRNA には遺伝子として読み取られる領域 (ORF) の最後に終止コドンが存在するが、何らかの影響により、終止コドンが欠損してしまった異常な mRNA。

(注5) CAT テイル

Rqc2 が合成途中の C 末端にアラニンとスレオニンをランダムに付加する反応。CAT テイルは分解の目印として働く一方で、Ltn1 が欠損すると CAT テイル領域が凝集体を形成することが知られている。

(注6) クライオ電子顕微鏡

液体窒素 (-196°C) 等により極低温に冷却された試料に対して電子線を照射し、試料を透過した電子線を検出することにより試料の観察を行う顕微鏡。

(注7) ユビキチン-プロテアソーム系

異常なタンパク質にユビキチンを付加し、それを目印に分解する系。プロテアソームは複数のタンパク質が集合して出来る複合体でタンパク質をアミノ酸へ分解する装置。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野

教授 稲田 利文 (いなだ としふみ)

https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/lab/basicmedicalsciences/page_00154.html

〈報道に関する問合せ〉

東京大学医科学研究所 国際学術連携室 (広報)

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/>