

ジンクフィンガーは諸刃の剣？翻訳されにくい mRNA の網羅的解析から新発見

■研究体制

京都産業大学、理化学研究所、東京大学医科学研究所の研究グループ

■発表論文

「Translation of zinc finger domains induces ribosome collision and Znf598-dependent mRNA decay in zebrafish」

(ジンクフィンガードメインの翻訳はゼブラフィッシュにおいてリボソーム衝突と Znf598 依存的 mRNA 分解を引き起こす)

■著者^(1筆頭著者、²責任著者、³京都産業大学、⁴理化学研究所、⁵東京大学医科学研究所)

石橋 幸大^{1,3}、七野 悠一⁴、Peixun Han⁴、若林 貴美³、水戸 麻理⁴、稲田 利文⁵、木村 成介³、岩崎 信太郎⁴、三嶋 雄一郎^{2,3}

● 概要

- 細胞内でのタンパク質の合成は、リボソームが mRNA の鎖に沿って塩基の三つずつの並び(コドン)を解読し、アミノ酸を順番に連結すること(翻訳)によって進行する。しかし、実際には、さまざまな要因によって翻訳が途中で停止してしまうことがある。翻訳が停止したままだと、合成が不完全なタンパク質が細胞内に蓄積したり、mRNA 上の別のリボソームとの衝突(追突)が起こったりして細胞に悪影響が生じる。
- 細胞には、翻訳が停止してしまった mRNA を取り除く「品質管理機構」が備わっている。しかし、どのような mRNA が実際に品質管理の対象となっているのかは、これまでほとんど分かっていなかった。
- 今回、三嶋教授を中心とする研究チームは、mRNA の解析手法「RNA-Seq」と、リボソームが衝突している mRNA 部位を解析する手法「ダイノームプロファイリング」を使って、細胞内(小型熱帯魚ゼブラフィッシュの胚)の大量の mRNA のうち、リボソームの衝突を引き起こして分解される mRNA を網羅的に探索した。その結果、**‘ジンクフィンガー’**というタンパク質の部分的な構造(ドメイン)の配列を持つ mRNA を翻訳する際に、**リボソームの衝突が起こりやすい**ことを突き止めた。ジンクフィンガーは DNA に結合できるという特徴を持ち、さまざまなタンパク質に含まれているドメインである。
- 本研究の成果は、私たちの体の中で mRNA とタンパク質の量がどのように調節されるのか、その基本原理の理解を飛躍的に高めるものであり、また、本研究で得られた知見は、mRNA を生体内でコントロールする技術の向上や、mRNA 医薬品の改良にも貢献できると考える。

● 背景

生物の細胞の中では、さまざまなタンパク質が、生存に必要な反応を進行させています。私たちの体を作る約 300 種類の細胞を正常に機能させるには、2 万種類以上ともされるタンパク質から必要な組み合わせを見つけ、それを適切な量だけ作らなければなりません。

それぞれのタンパク質は、ゲノム DNA に含まれる特定の遺伝情報に基づいて、アミノ酸分子を、一つずつ、決まった順番で連結させることで合成されます。このとき DNA の遺伝情報は、まず、メッセンジャーRNA(mRNA)と呼ばれる鎖状の分子のうえの塩基の並びとして写し取られます(転写)。次に、タンパク質合成装置であるリボソーム^[1]が、

mRNA の鎖に沿って一方向に移動しながら塩基を三つずつ解読し、対応するアミノ酸を順番に連結することで、特定のタンパク質を合成します(翻訳)。リボソーム^[1]によって解読される三つで一組の塩基の組み合わせはコドン^[2]と呼ばれ、トランスファーRNA(tRNA)という分子がそれぞれのコドンに対応する特定のアミノ酸を一つずつリボソームへと運びます。

‘塩基を三つずつ解読’といっても、翻訳は必ずしも一定のリズムで進むわけではなく、細胞の中のさまざまな要因によってリボソームの移動速度は変化します。tRNA が足りなくなったり、翻訳しにくいコドンやアミノ酸の並び方に出くわすと、リボソームは mRNA の鎖の上で停止してしまいます。停止時間が長くなると、合成が途中のままの不完全なタンパク質が出来てしまったり、別のリボソームが移動してきて衝突(追突)した状態になったりします。こうした状況が蓄積していくと、細胞に悪影響が及びます。

そこで、細胞には、衝突したリボソームを見つけて対処する「リボソーム品質管理機構^[3]」が備わっており、リボソームの衝突を解消するとともに、衝突を起こしてしまった mRNA を分解することで、衝突の蓄積を防ぎます(この機構の存在は、今回の論文著者の一人である東京大学医科学研究所 基礎医科学部門 RNA 制御学分野の稲田利文教授らのグループによって解明されていました(Matsuo et al., Nature Commun. 2017 ほか))。しかし、細胞の中で翻訳されている大量の mRNA のうち、実際にどの mRNA でリボソームの衝突とその品質管理が起こっているのか、その全体像は明らかになっていませんでした。

● 研究方法と成果

今回、私たちは、研究用モデル生物の一種である淡水性の小型熱帯魚ゼブラフィッシュを使った実験により、リボソーム品質管理の対象となる mRNA を網羅的に決定しました。

今回の研究では、リボソーム品質管理機構に必須である Znf598 というタンパク質が作られなくなるようにしたゼブラフィッシュの変異体(*znf598*変異体)を用いました。翻訳の停止を引き起こしてしまった mRNA は、通常ならリボソーム品質管理機構によって分解されるのですが、品質管理が働かない *znf598* 変異体では、分解されずに細胞内に蓄積することが予想されます。そこで、ゼブラフィッシュの野生型と *znf598*変異体の胚を使って、mRNA の種類と量を網羅的に比較することができる「RNA-Seq」という手法により解析しました。

その結果、*znf598* 変異体で蓄積している mRNA を 200 種類以上決定することに成功しました。そして、これらの mRNA の特徴を調べると、‘ジंकフィンガー(zinc finger)^[4]’というタンパク質の構造(ドメイン)に翻訳されるための塩基配列が、頻繁に繰り返して存在していることが分かりました(図1左)。

次に、私たちが以前に開発した「ダイソームプロファイリング(disome profiling)」(Han et al., Cell Rep. 2020)という手法を使って、リボソームが mRNA のどの部分で衝突しているか解析したところ、この‘ジंकフィンガードメイン’を翻訳している途中でリボソーム同士が頻繁に衝突することが分かりました(図1右)。

ジंकフィンガーは、25~30 アミノ酸の並びで構成されるタンパク質ドメインのグループで、それらの多くは DNA に結合して転写を調節する役割を担っています。ジंकフィンガードメインは、動物の全遺伝子(ゲノム)のうちで最も多く含まれているタンパク質ドメインであり、このドメインを繰り返して持つ遺伝子は、各生物のゲノムに数百種類以上も存在しています。このようにジंकフィンガー遺伝子が多様性を持つことは、遺伝子の転写調節の多様性を生み出すとともに、ゲノム DNA 中を転移するトランスポゾンの働きを抑制するために重要であることが知られています。

つまりこれまで、ジंकフィンガー遺伝子をたくさん持つことは生物にとって有利に働くと考えられてきました。ところが今回の私たちの発見から、ジंकフィンガー遺伝子の mRNA は、実はリボソームにとっては翻訳しにくい、いわば「苦手とする mRNA」であったことが分かりました。この結果は、ジंकフィンガー遺伝子は、遺伝子制御の多様性をもたらす正の側面だけでなく、翻訳のトラブルを引き起こす負の側面をも併せ持つ、いわば「諸刃の剣」であることを意味しています。このジंकフィンガー mRNA で起こり得る翻訳のトラブルをリボソーム品質管理機構が解消してくれるおかげで、生物はこの諸刃の剣をうまく使いこなすことができているといえるでしょう。

● 今後の展開

リボソームの停止を引き起こすジンクフィンガードメインの特徴をさらに詳細に調べ、様々な生物の間で比較解析を行うことで、リボソームが苦手とする mRNA に共通する特徴を分子のレベルで説明できるようになると考えられます。またこの研究成果は、リボソームと mRNA 配列がどのようにして協調的に進化してきたのか、そのプロセスのより深い理解にもつながります。さらに、mRNA ワクチンのような人工 mRNA を作る際に、細胞の中で効率よくかつ安全にタンパク質を作り出せるように設計する技術の開発にも貢献できると期待しています。

【引用・参考文献】

Matsuo et al., “Ubiquitination of stalled ribosome triggers ribosome-associated quality control.” Nature Commun. 2017 (doi: 10.1038/s41467-017-00188-1)ほか

Han et al., “Genome-wide Survey of Ribosome Collision.” Cell Rep. 2020 (doi: 10.1016/j.celrep.2020.107610)

■用語・事項の解説

- [1] **リボソーム**:細菌からヒトまで、すべての生物が持つ細胞内のタンパク質合成装置。mRNA の配列(コドンの並び)にしたがって、アミノ酸を一つずつ連結し、タンパク質を合成する。
- [2] **コドン**:リボソームが解読する 3 塩基一組の組み合わせ。64 通りのコドンによって、20 種類のアミノ酸のいずれか、または翻訳の終結が指定されている。
- [3] **リボソーム品質管理機構**:mRNA を翻訳している途中で起こったリボソームの異常停止を解消するしくみ。翻訳を強制終了させてからリボソームを再利用し、mRNA とタンパク質を分解することで、翻訳中のリボソーム、mRNA、タンパク質のそれぞれの異常を解消できる。
- [4] **ジンクフィンガー**:25-30 アミノ酸で構成されるタンパク質のドメイン(部分的な構造)の一種。構造をとる際に亜鉛イオンを掴むような形を取ることから、ジンクフィンガー(亜鉛の指)と呼ばれる。

■論文情報

論文タイトル	Translation of zinc finger domains induces ribosome collision and Znf598-dependent mRNA decay in zebrafish (ジンクフィンガードメインの翻訳はゼブラフィッシュにおいてリボソーム衝突と Znf598 依存的 mRNA 分解を引き起こす)
掲載誌	「PLOS Biology」(オンライン版)
掲載日	2024 年 12 月 6 日(金)(日本時間)AM 4:00
著者	石橋 幸大 ^{1,3} 、七野 悠一 ⁴ 、Peixun Han ⁴ 、若林 貴美 ³ 、水戸 麻理 ⁴ 、稲田 利文 ⁵ 、木村 成介 ³ 、岩崎 信太郎 ⁴ 、三嶋 雄一郎 ^{2,3} (¹ 筆頭著者、 ² 責任著者、 ³ 京都産業大学、 ⁴ 理化学研究所、 ⁵ 東京大学医科学研究所)
DOI	doi: 10.1371/journal.pbio.3002887
URL	https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.3002887

■謝辞

この研究は、科研費の基盤研究 (B) (JP23H02413, JP23H02415, JP21H02513)、基盤研究 (A) (JP23H00095)、挑戦的研究(萌芽) (JP22K19300)、若手研究 (JP22K15042, JP21K15023)、学術変革領

域研究(A)(JP24H02307, JP21H05734, JP23H04268)、日本医療研究開発機構(AMED)・革新的先端研究開発支援事業(PRIME)「健康・医療の向上に向けた早期ライフステージにおける生命現象の解明」研究開発領域、同(AMED-CREST)「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」研究開発領域、の助成を受けて実施されました。

【研究に関する問い合わせ】

京都産業大学 生命科学部 教授 三嶋 雄一郎(みしま ゆういちろう)

<https://www.kyoto-su.ac.jp/faculty/professors/nls/mishima-yuichiro.html>

【報道に関する問い合わせ】

京都産業大学 広報部

<https://www.kyoto-su.ac.jp/>

理化学研究所 広報室 報道担当

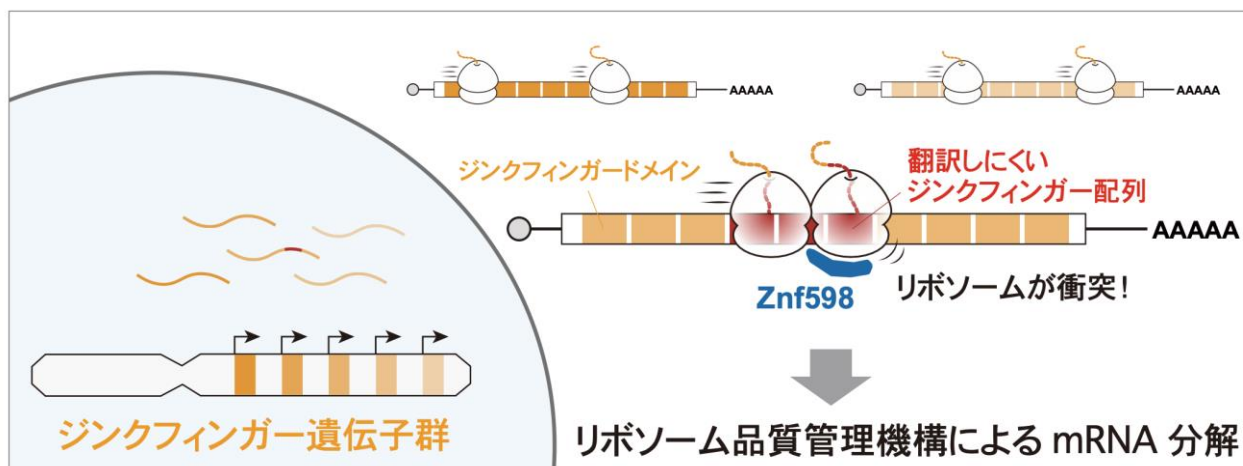
<https://www.riken.jp/>

東京大学医科学研究所 プロジェクトコーディネーター室(広報)

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

■添付資料

図1: タンパク質合成装置であるリボソームは、mRNA の鎖の上のコドンの並びを順番に解読し、対応するアミノ酸を連結してタンパク質を合成(翻訳)する。しかし mRNA の中には、翻訳されにくいためにリボソーム同士の衝突を引き起こしてしまうものがある。今回の研究では、翻訳されにくい mRNA として、ジンクフィンガードメイン(オレンジ色)の配列を



繰り返して持つ mRNA を発見した。そして、ジンクフィンガー-mRNA はリボソーム品質管理機構によって分解されるという調節を受けていることが分かった。ジンクフィンガー遺伝子は、ゲノム中に数百種類以上も存在していることから(図左下)、遺伝子調節の多様性を生み出す一方で、翻訳しにくい mRNA をたくさん作り出す原因にもなっていると考えられる(図右)。

以上