

自己評価報告書

平成23年 5月 7日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20112006

研究課題名（和文）

遺伝子発現の正確性を保証する mRNA 品質管理機構

研究課題名（英文）

mRNA quality control mechanisms that ensure the fidelity of gene expression

研究代表者

稲田 利文 (INADA TOSHIFUMI)

東北大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：40242812

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：mRNA 品質管理、mRNA 分解制御、翻訳、リボソーム、新生ポリペプチド鎖、プロテアソーム

1. 研究計画の概要

生命現象の基盤となる遺伝子発現の正確性は、細胞の保持する様々な品質管理機構によって保証されている。mRNA の品質はリボソームにより感知され、異常な翻訳終結が引き金となって分解が促進される。研究代表者は、真核生物における品質管理機構の全体像を理解することを目的として、(1) 翻訳異常の認識機構、(2) 異常タンパク質分解機構、について研究を行った。また翻訳異常の認識後の mRNA 分解系の理解には Pab1p による mRNA 安定化機構の解明が必須であるため、(3) ポリ(A)鎖結合因子による mRNA 安定化機構、についても研究を行った。

2. 研究の進捗状況

(1) 翻訳異常の認識機構：連続した塩基性アミノ酸残基による翻訳伸長阻害（アレスト）に必須な因子として、40S サブユニットに結合する RACK1 を同定した (*EMBO Reports*, 2010)。ノンストップ mRNA の迅速な分解（NSD）には終止コドン非依存の翻訳終結反応が必須である。翻訳終結因子 eRF1/eRF3 複合体と相同性を持つ Dom34/Hbs1 複合体が、終止コドン非依存の翻訳終結反応に必要であることを明らかにした (*PNAS*, 2010)。(2) 異常タンパク質の分解機構：「異常タンパク質の分解促進」という Upf 複合体の全く新しい役割が明らかとなった (*EMBO Rep*, 2009)。連続した塩基性アミノ酸配列による翻訳伸長阻害に伴い、Not4p がユビキチンライゲース E3 として機能し、翻訳に共役して新生ポリペプチド鎖が分解されることを見いだした (*J. Biol. Chem.*, 2009)。(3) ポリ(A)鎖結合因子(Pab1p)による mRNA 安定化機構：

Pab1p による mRNA 型非翻訳 RNA の安定化機構を見いだした (*J. Biol. Chem.*, 2010)。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。
中間評価では領域全体として A 評価であり、本研究課題も原著論文を 7 報発表し、各研究項目について順調に研究が進行している。従って本計画研究は、おおむね順調に進展していると自己評価する。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 翻訳異常の認識機構：①連続した塩基性アミノ酸配列による翻訳アレストの分子機構：RACK1 の構造解析を元にした網羅的変異体解析により、リボソームタンパク質への RACK1 の結合が翻訳アレストに必須か、試験管内翻訳反応を用いて検証を行う。また、翻訳アレストに欠損を示すリボソームタンパク質変異体の分離を試みる。②品質管理機構における Dom34/Hbs1 複合体の普遍的機能：Dom34/Hbs1 複合体が、「停滞したリボソーム」という共通した異常翻訳を認識し、3つの品質管理機構 (NGD/NRD/NSD) を作動させる機構の解明を進める。

(2) 異常タンパク質の分解機構：①ナンセンス変異 mRNA 由来異常タンパク質：ナンセンス変異を持った異常 RNA 由来の短鎖タンパク質の分解に機能する E3 として同定した Rkr1 の機能解析を進める。また、異常な終止コドンにおける翻訳終結反応において、Upf1 がプロテアソームと異常ペプチジル tRNA とリボソーム上で相互作用するモデルを検証する。②翻訳アレストに伴うタンパク質分解：翻訳に共役したアレスト産物の分解に必須

なE3 であるNot4 がリボソームへ結合することが、新生ポリペプチド鎖のプロテアソームによる分解に必須か検証する。

(3) ポリ(A)鎖結合因子(Pab1p)による mRNA 安定化機構: キャップ構造と Pab1p の直接の相互作用による非翻訳 RNA 安定化モデルの検証を行う。

5. 代表的な研究成果
〔雑誌論文〕(計7件)

1. Kuroha, K., Akamatsu, M., Dimitrova, L., Ito, T., Kato, Y. Shirahige, K. and *Inada, T., 査読あり、RACK1 stimulates nascent polypeptide-dependent translation arrest. **EMBO Reports** 11, 956-961. (2010)
2. Kobayashi, K. Kikuno, I. Kuroha, K. Saito, K. Ito, K. *Ishitani, R. Inada, T. and *Nureki, O.、査読あり、Structural Basis for mRNA Surveillance by Archaeal Pelota and GTP-bound EF1 α Complex. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 107, 17575-17579. (2010)
3. Tsuboi, T. and *Inada, T.、査読あり、Tethering of poly(A) binding protein interferes with non-translated mRNA decay from 5' end in yeast. **J. Biol. Chem.** 285, 33589-33601. (2010)
4. Kuroha, K., Tatematsu, T. and *Inada, T.、査読あり、Upflp stimulates proteasome-mediated degradation of the product derived from the specific nonsense-containing mRNA. **EMBO Reports** 10, 1265-1271. (2009)
5. Dimitrova, N., Kuroha, K., Tatematsu, T. and *Inada, T.、査読あり、Nascent peptide-dependent translation arrest leads to not4p-mediated protein degradation by the proteasome. **J. Biol. Chem.** 284, 10343-10352. (2009)
6. Kuroha, K., Horiguchi, N., Aiba, H. and *Inada, T.、査読あり、Analysis of nonstop mRNA translation in the absence of tmRNA in *E.coli*. **Genes to Cells** 14, 739-749. (2009)
7. Nukazuka, A. Fujisawa, H. Inada, T. Oda, Y. Takagi, S.、査読あり、Semaphorin controls epidermal morphogenesis by stimulating mRNA translation via eIF2a in *C. elegans*. **Genes Dev.** 22, 1025-1036. (2008)

〔学会発表〕(計6件)

(共著多数につき主要学会のみ記載)

1. 稲田利文、BMB2010 (日本分子生物学会・日本生化学会、合同年会) 1W20 異常翻訳の認識と品質管理機構における Dom34/Hbs1 複合体の新たな役割、2010年12月7日、神戸国際会議場
2. 稲田利文、Translational Control Meeting, 40S-ribosome-bound RACK1 functions in nascent peptide-dependent translation arrest

that leads to Dom34/Hbs1-independent NGD、2010年9月15日、CSHL, NY, USA

3. 稲田利文、Ribosome 2010, Rack1 participates in nascent polypeptide-dependent translation arrest、2010年5月15日、Orvieto, Italy
4. 稲田利文、Translational control meeting, 40S ribosome-bound RACK1 functions in nascent peptide-dependent translation arrest、2009年9月5日、EMBL, Heidelberg, Germany
5. 稲田利文、Eukaryotic mRNA processing, 40S ribosome-bound RACK1 functions in nascent peptide-dependent translation arrest that leads to Hbs1/Dom34-independent NGD、2009年8月20日、CSHL, NY, USA
6. 稲田利文、第82回日本生化学会シンポジウム 12S12p 多様性と非対称性を獲得するRNAプログラム「新生ポリペプチド鎖依存翻訳アレスト因子RACK1の同定」、2009年10月22日、神戸国際会議場

〔図書〕(計4件)

1. 稲田利文、共立出版社、蛋白質核酸酵素増刊号『多様性と非対称性を獲得するRNAプログラム』「概論：遺伝子発現制御の中核をなすRNAプログラム」、2009、239:2025-2031 ページ、
2. 稲田利文、共立出版社、蛋白質核酸酵素増刊号『多様性と非対称性を獲得するRNAプログラム』「RNAプログラムを支える品質管理機構」、2009、239:2184-2188 ページ、
3. 稲田利文、羊土社、実験医学増刊『RNAの機能解明と医療応用』「転写後制御を標的とした遺伝子疾患治療—異常mRNAから正常なタンパク質を合成させる低分子化合物」、2008、26: 1644~1649 ページ
4. 稲田利文、羊土社、実験医学増刊『タンパク質の分解機構』「mRNAの動態とプロテアソーム」、2008、26: 237-241 ページ

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕