

令和 3 年 6 月 29 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16038

研究課題名(和文) リボソーム動態制御により拡張されるタンパク質レパートリーの探索

研究課題名(英文) Exploration of novel protein repertoires expanded by the regulation of translation elongation dynamics

研究代表者

茶谷 悠平 (Chadani, Yuhei)

東京工業大学・科学技術創成研究院・特任助教

研究者番号：30794383

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：DNAにコードされる遺伝情報はmessenger RNA(mRNA)へと転写されたのち、細胞内装置リボソームによってタンパク質へと変換(翻訳)される。本研究では、リボソーム機能を制御することで遺伝子構造を改変し、一種類のmRNAから複数のタンパク質を発現させる新生ポリペプチド配列について解析を行った。本研究の成果から、負電荷アミノ酸を連続して翻訳したリボソームは複合体構造が不安定化し、翻訳の途上終結ないしmRNAの読み飛ばしによる読み枠の改変が発生すること、また翻訳の停滞が上記現象を促進することを明らかにし、人工的にデザインした配列での再構成にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一種類のmRNAからは一種類のタンパク質が発現することが、遺伝子発現の原則である。本研究では、そうした前提を覆す非典型的翻訳の一部について、その基本原理を明らかにし、様々な遺伝子発現にも波及しうることを示した。実際、リボソーム機能を制御しうる負電荷アミノ酸クラスターは生物種を問わず様々な遺伝子に高頻度に出現することから、翻訳段階での制御によって、生物は従来の想定を超えた複雑なプロテオームを形成している可能性がある。また非典型的翻訳はSARS-CoV-2の重要因子の発現にも寄与しており、翻訳制御の統合的理解は、現在あるいは将来人類が直面する様々な問題の解決策につながるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Genetic information encoded within DNA is transcribed to messenger RNA (mRNA), which is then translated to polypeptide by the ribosome. In this study, we analyzed the nascent polypeptide sequence that modifies the open reading frame (ORF) of the ribosome by modulating the function of the ribosome and expresses multiple proteins in different forms from one mRNA. The results revealed that the destabilization of the ribosome complex induced by translation of consecutive negatively charged amino acid residues stochastically switches the reading frame of ribosome or prematurely terminates the translation. Above phenomenon is promoted by attenuation of translation elongation and is also reproduced on artificially reconstituted sequences.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：リボソーム 翻訳(タンパク質合成) 新生ポリペプチド鎖 ORF フレームシフト

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

DNA にコードされる遺伝情報は messenger RNA(mRNA)へと転写された後、開始コドンと終止コドンにより定義される open reading frame (ORF) 領域がリボソームによってポリペプチド鎖(タンパク質)へと翻訳されることで発現する。mRNA からタンパク質へと翻訳される途上の新生ポリペプチド鎖(新生鎖)は、リボソームトンネルとの相互作用によって様々にリボソームの翻訳活性を制御する。例えば負電荷アミノ酸(とプロリンとの混成配列)を連続で翻訳すると、リボソームの複合体構造が不安定化して、確率的に翻訳を途中で中断する IRD 現象 (Intrinsic Ribosome Destabilization) が発生する。IRD は生物種を問わずゲノム中に出現する負電荷アミノ酸の連続配列によって引き起こされるので、IRD の生理学的意義を明らかにする目的で既知の翻訳動態との関連を検討した。その結果、T4 bacteriophage gp60 で見られる ribosome hopping 現象に着目した。

T4 bacteriophage の gp60 1st ORF (gp60<sup>1st</sup>) と gp60 2nd ORF (gp60<sup>2nd</sup>) からは、2つの ORF がつながった一本のポリペプチド鎖が約 50% の頻度で合成される。この際、gp60<sup>1st</sup> の終止コドンから gp60<sup>2nd</sup> の翻訳復帰点(landing site)までの mRNA を読み飛ばし、2つの ORF を連続して翻訳することから、ribosome hopping(あるいは bypassing) と呼称される。研究開始時点において、

gp60<sup>1st</sup> の終止コドン周辺に複数存在する負電荷アミノ酸 (IRD) が hopping を誘導していることを確認していた(図 1)。また先に記載したように、IRD を駆動する負電荷アミノ酸クラスターは生物のゲノム中に多数コードされることから、hopping 現象は gp60 のよう

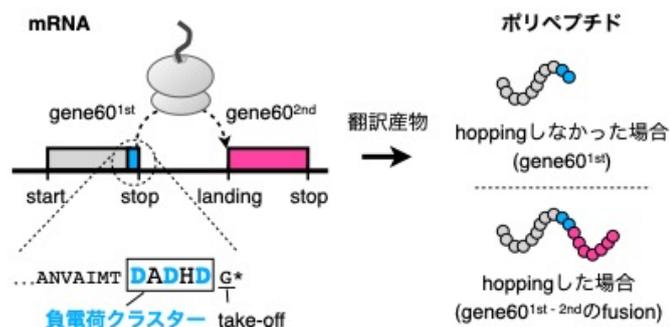


図1 ribosome hopping(mRNAの読み飛ばし)によって、2つのORFが一本のポリペプチド鎖として合成される。

なウイルス遺伝子だけでなく、生物が元来有する遺伝子においても発生する可能性を想起し、当研究提案を行なった。

## 2. 研究の目的

従来の遺伝子発現の原則に従えば、特定の mRNA 分子からは、ORF によって定義されたタンパク質のみが発現しなければならない。しかし近年そうした考えとは逆に、ORF による定義から外れた遺伝子産物が発現し、実際に生理学的意義を有する事例が生物種を問わず報告されている。またそうした非典型的な遺伝子発現を実現する中核の一つが、リボソームによる翻訳機能の制御であることも明らかにされつつある。本研究計画ではリボソーム機能を制御する、リボソームトンネル内の新生ポリペプチド鎖に着目して解析を行うこととした。特に研究代表者が世界に先駆けて発見した、リボソーム複合体の不安定化(IRD)を誘導する負電荷アミノ酸のクラスター配列による遺伝子情報の拡張、改変について詳細に解析を行った。解析を通じて、IRD を駆動力の一つとして発生する ribosome hopping 現象の発生条件の特定と、大腸菌内在遺伝子の翻訳途上での

hopping 発生状況の解明を目指した。

### 3. 研究の方法

研究背景で記載したように、ribosome hopping 現象を駆動する IRD は、負電荷アミノ酸の連続配列の翻訳によって発生する。この結果に基づき、ORF 内部に負電荷アミノ酸クラスターを保持する大腸菌遺伝子をリストアップし、実際にそれらの遺伝子から発現する産物パターンを個別に評価した。検討したうち、複数のタンパク質産物が検出された遺伝子については、内部の負電荷アミノ酸クラスターを取り除いた変異体でも解析を行い、IRD 依存的な ribosome hopping によりタンパク質レパートリーが拡張される遺伝子を探索した。

### 4. 研究成果

前項 3 の解析の結果、大腸菌遺伝子 gene X の C 末端に位置する負電荷アミノ酸クラスターに依存して ribosome hopping が発生し、下流 gene Y との融合タンパク質が発現していることを突き止めた(論文投稿準備中)。また、gene X で発生する hopping 現象について詳細に解析したところ、hopping を開始するコドン直後に存在するレアコドンでの翻訳停滞が、IRD 依存的な hopping 駆動に重要であることを見出した。過去の gene60 研究においても翻訳停滞の重要性は指摘されており、大腸菌 gene X と T4 bacteriophage gene 60 の共通項から hopping 発生に必要な条件として 1. 負電荷アミノ酸クラスターの翻訳、2. 負電荷アミノ酸クラスター直後での翻訳停滞が重要であることが浮かび上がった。この仮説を立証するため、見出した条件を満たす配列を人工的に再設計し、ribosome hopping が誘導されるか検討した。結果、条件 1,2 が満たされていれば、長さによらずリボソームが mRNA の読み飛ばし(hopping)を発生させることを確認し、ribosome hopping 現象の再構成に成功した(図 2)。

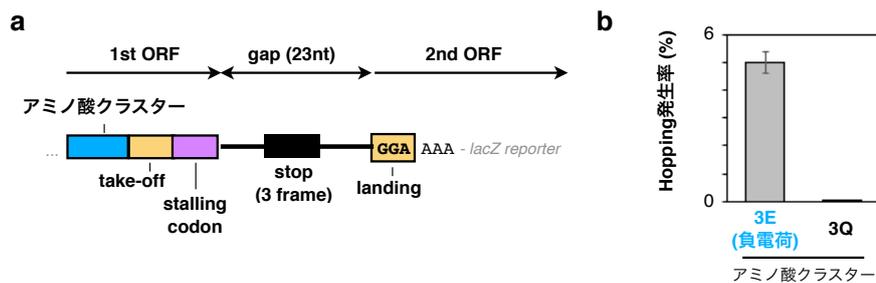


図2 a. 人工的にデザインした配列によるhopping誘導配列

b. take-off コドン直前の負電荷アミノ酸に依存してhoppingが発生する

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 田口 英樹、茶谷 悠平、丹羽 達也	4. 巻 59
2. 論文標題 翻訳伸長ダイナミクスと新生鎖フォールディング	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 137-140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田邊 葵、茶谷 悠平、丹羽 達也、田口 英樹
2. 発表標題 リボソーム不安定化をトリガーとしたribosome hoppingによる大腸菌ORFの再定義
3. 学会等名 日本遺伝学会第91回大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------