

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22406

研究課題名（和文）重力による翻訳制御の網羅的解析

研究課題名（英文）Genome-wide survey of translational control under microgravity

研究代表者

岩崎 信太郎（Iwasaki, Shintaro）

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

研究者番号：80611441

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：地球上の生物は地上の重力に適応するように進化してきた。しかしながら、生物が重力をどのように利用しているのか、といった根本的な問題は十分に理解されていない。本研究では、ミトコンドリアが重力を利用してその翻訳を促進していることが明らかになった。微小重力化で培養したヒト細胞を用いて網羅的手法であるribosome profiling法を行ったところ、ミトコンドリア内翻訳が特異的に減少していることが明らかになった。さらに微小重力によるミトコンドリア翻訳の減少は、細胞接着またはそれに付随するFAKシグナル経路の減弱によることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により細胞が重力を利用し、エネルギーを産生するオルガネラ内の翻訳を活性化しているという機構が明らかになった。生物にとって重力が非常に重要な物理的パラメーターであることは、宇宙に長期滞在した宇宙飛行士の加齢様症状によっても明らかである。特にミトコンドリアダメージは加齢と密接に関わることが知られており、本研究で明らかになった微小重力によるミトコンドリア翻訳の減少がまさにその引き金になっている可能性を示唆する。また、細胞接着とミトコンドリア翻訳の関連はこれまで全く知られていない現象であり、新たな研究のseedを生むという意味で学術的意義は高い。

研究成果の概要（英文）：Life on the earth has evolved in a form suitable for the gravitational force (1 g). However, the molecular details of how mammalian cells harness gravity have remained unclear. Here we show that mitochondria utilize gravity for activating protein synthesis within the organelle. Genome-wide ribosome profiling unveiled the reduced mitochondrial translation in human cells under microgravity (1×10^{-6} g). In addition, we found that attenuated cell adhesion and the subsequent FAK signaling pathway by microgravity decrease the mitochondrial protein synthesis.

研究分野：分子生物学

キーワード：翻訳 Ribosome Ribosome profiling 重力 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

翻訳は細胞が使うエネルギーのおおよそ半分を消費する大規模な反応であり、厳密に制御されている。翻訳制御が細胞増殖、発生、ストレス応答など多岐にわたる生命現象をコントロールすることが知られてきた。しかしながらこれまで翻訳を網羅的かつ定量的に俯瞰する技術がなかったことから、翻訳によって制御される生命現象の理解は大きく遅れていた。リボソームプロファイリング法はまさにこの問題を解決する手法として登場した (Ingolia et al. Science 2009)。実際に私達のグループはこれまでにこの技術を使い、Rocaglamide A と呼ばれる抗がん作用をもつ翻訳阻害剤の作用メカニズムの解明 (Iwasaki et al. Nature 2016, Iwasaki et al. Mol. Cell 2019)、翻訳制御によりヒト ES 細胞から神経細胞への分化・運命決定が制御される現象 (Werner et al. Nature 2015)、酵母における遺伝子量補正のメカニズム (Ishikawa et al. PLoS Genet. 2017)、植物が光に応答し 5' UTR (untranslated region) 配列を変化させ、翻訳効率を制御する現象 (Kurihara et al. PNAS 2018) など、多岐にわたる生物種において翻訳が司る多様な生命現象の理解に取り組んできた。これらの研究の中で我々は翻訳が特に環境変化に対応することを明らかにしてきた。

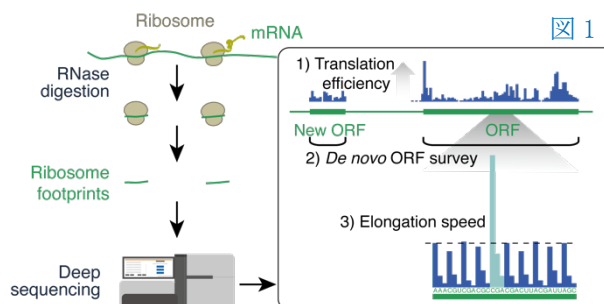
しかし、細胞がさらされる環境の中には地球上あるいは生命が生育する過程ではほとんど変化しないものもある。このことから、対応ではなく「前提として利用」している環境要因があるのではないかという逆転の発想にいたった。地球上で生物が生育している環境においては通常重力は 1 g であり、微小な重力環境に細胞が置かれることは稀である。このことから、むしろ細胞はこの 1 g 環境を当たり前利用したメカニズムがあるのではという着想に至った。

2. 研究の目的

生命は 40 億年の歴史の中で、地球上の重力に適応、進化してきた。しかしその一方で生命が地球上の重力という環境をどのように利用し、遺伝子発現を制御しているのか? という問いは、基本的なものであるのに関わらず驚くべきほどよくわかっていない。本研究では、セントラルドグマの中核をなす「翻訳」が重力によってどのように影響されるか、というこれまでの生物学の歴史で全く研究されていないフロンティアに挑戦することを目的とした。

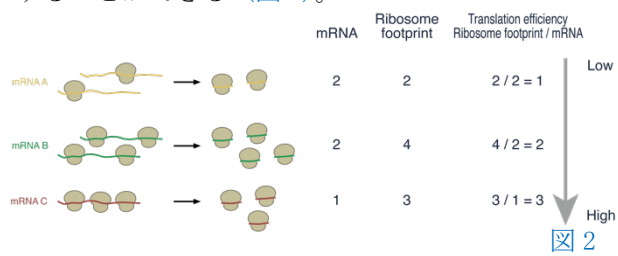
3. 研究の方法

本研究ではリボソームプロファイリング法を応用し、微小重力によって翻訳がどのように影響を受けるかを網羅的に探索するアプローチをとった。リボソームプロファイリング法では、リボソームと mRNA の複合体に対し、RNase 処理を施す。通常、mRNA のほぼ全てはこの処理によって分解されるが、リボソームが直接結合している領域は RNase による消化から保護される (図 1)。



この性質を逆手に取り、残った mRNA 断片を次世代シーケンサーによって解読することで、細胞がその瞬間、どの mRNA のどのコドンを読み取っていたか、という俯瞰図を得ることができる。特に RNA-Seq を同時に行って RNA の量と比較することにより、mRNA ごとに変化する「翻訳の効率」を網羅的にかつ定量的に明らかにすることができる (図 2)。

本研究では 1 g 環境下と微小重力下において培養したヒト培養細胞 (HEK293) に対してリボソームプロファイリングと RNA-Seq を行い、重力によって起きる翻訳の効率変化を網羅的に計測した (図 3A)。JAXA との共同研究により、地球軌道上にある国際宇宙ステーション (International Space Station, ISS) 実験室「きぼう」において微小重力条件と遠心による 1 g 条件下で培養を行い、サンプルを調製した。その後地上にサンプルを帰還させ、リボソームプロファイリングと RNA-Seq を行った。



4. 研究成果

上記の国際宇宙ステーションで実験を行うために種々の条件検討、実験の簡易化等を行った。最終的に 2020 年 10 月にサンプルが国際宇宙ステーションに輸送され、2021 年 2 月に実験、2021 年 7 月に地上に帰還した。研究室でリボソームプロファイリングを行い、その結果を解析した (図 3A)。その結果、多くの遺伝子の翻訳が減少することがわかった。翻訳が現象する mRNA の中で、特にミトコンドリアゲノムにコードされた 13 の mRNA の翻訳が微小重力によって減少する、

ということを見出した (図 3B)。これに対し、RNA-seq を行ったところ、ミトコンドリア mRNA の減少は観察されるものの、翻訳変化を説明するほどではない (図 3B)。また、「翻訳の効率」を計算した場合であっても、微小重力によるミトコンドリア翻訳変化を捉えることができる (図 3B)。また、微小重力環境化での培養は 24 時間および 48 時間行ったが、ミトコンドリア翻訳の減少は特に 24 時間で顕著であり、48 時間では回復傾向にあった。それに対して、ミトコンドリア mRNA 量の変化は 24 時間および 48 時間で大きな差はなかった (図 3C)。これらの結果から、ミトコンドリア翻訳減弱は重力変化に比較的鋭敏な反応であり、48 時間程度の時間であると、細胞はその環境に適応したようにみえる。また、これは mRNA 量が十分時間減少したため、翻訳を制御する必要がなくなったからではないか、と考察される。

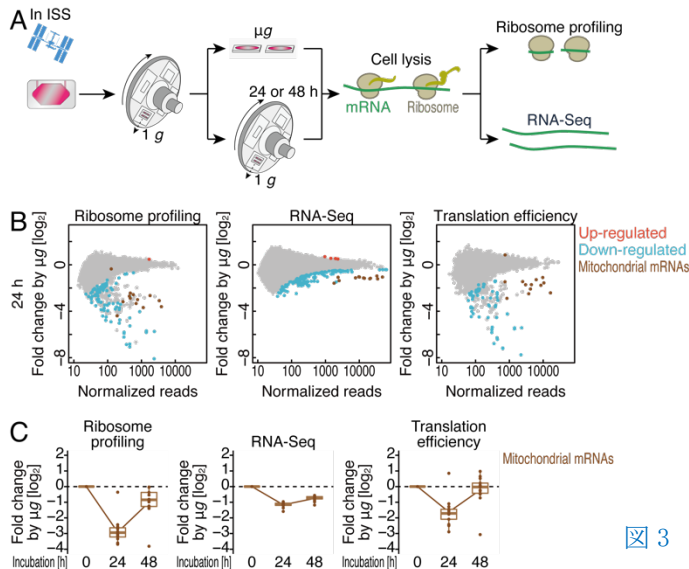


図 3

以上の結果は、地上の実験室で微小重力を再現する装置であるクリノスタット (3次元回転培養装置) を使った場合でも同様に観察することができる。擬似的微小重力下で細胞を培養し、同様にリボソームプロファイリングと RNA-Seq を行った結果、国際宇宙宇宙ステーションの場合と比べて差が小さいが、十分にミトコンドリア翻訳の減少を捉えると事ができる (図 4A-C)。特に 1 時間の疑似微小重力環境であってもミトコンドリア翻訳の減少を検出することができた。

以上の結果はリボソームプロファイリング以外の手法でも再現することができる。ミトコンドリア内で合成されているタンパク質を特異的に蛍光標識する手法である mito-FUNCAT 法をこれまでの研究で確立しているが (Kimura, Saito et al. RNA 2022)、これを用いた場合であっても疑似微小重力によるミトコンドリア翻訳の減弱を観察することができる (図 4D)。また、同様の現象はヒトだけでなくマウス培養細胞でも見られることから進化的に保存された現象であることが分かった (図 4D)。さらに、逆に遠心による加重力によって、ミトコンドリア翻訳が亢進することも分かっており、非常に可塑的な反応であることが示唆される (図 4E)。

これまで微小重力によって細胞接着が物理的に弱まることが知られていたことから、微小重力による細胞接着の減弱が、ミトコンドリア翻訳の停滞につながっているのではと仮説を立てた。そこでまず、細胞接着がミトコンドリア翻訳の活性化するかを検証した。Mito-FUNCAT 法を用いて解析を行うと、ラミニンによる細胞接着の増減に比例して、ミトコンドリア翻訳が調整されていることが明らかになった (図 5A-B)。

細胞接着依存的なミトコンドリア翻訳制御の分子機構をより詳細に理解する実験を更に進めた。ラミニン-インテグリンによる細胞接着の情報伝達経路である FAK に伝わるが、FAK を siRNA によってノックダウンしておく、ラミニン依存的なミトコンドリア翻訳の亢進が生じなくなる (図 5C)。

実際に細胞接着の減弱が微小重力によるミトコンドリア翻訳の減少の原因になっているかを解析するために、事前に培養容器をラミニンで処理したのちに、疑似微小重力環境下で培養し、リボソームプロファイリングを行った。その結果、ラミニン処理によって、ミトコンドリア翻訳

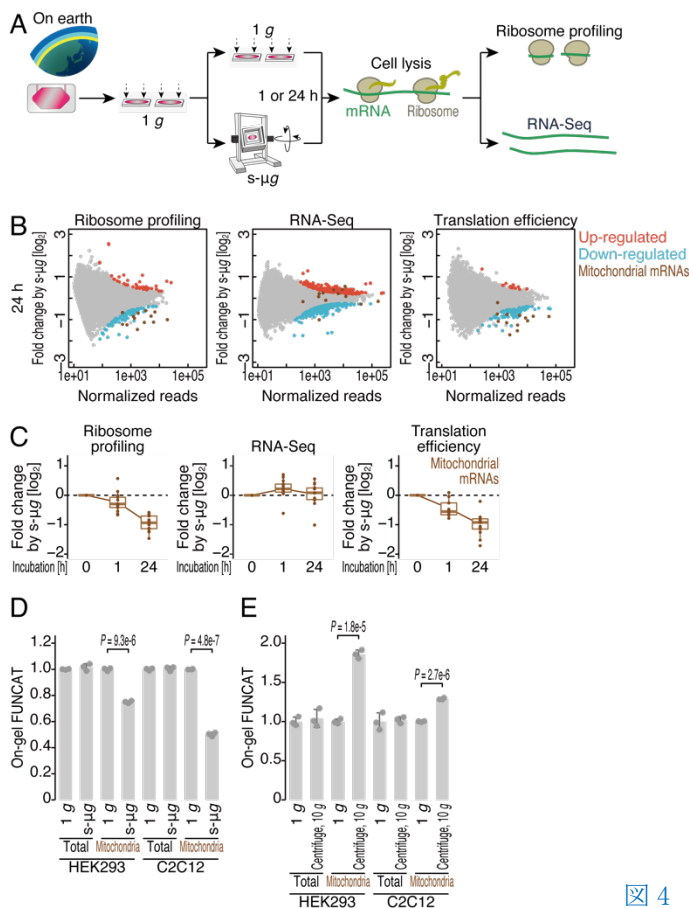


図 4

の減少が生じにくくなる、ということが示された (図 5D)。

本研究により細胞が重力を利用し、エネルギーを産生するオルガネラ内の翻訳を活性化しているという機構が明らかになった。生物にとって重力が非常に重要な物理的パラメーターであることは、宇宙に長期滞在した宇宙飛行士の加齢様症状によっても明らかである。特にミトコンドリアダメージは加齢と密接に関わることが知られており、本研究で明らかになった微小重力によるミトコンドリア翻訳の減少がまさにその引き金になっている可能性を示唆する。また、細胞接着とミトコンドリア翻訳の関連はこれまで全く知られていない現象であり、新たな研究の seed を生むという意味で学術的意義は高い。本研究は重力—細胞接着

—ミトコンドリア内翻訳という、これまで全く未知であった三者の関係を見出したといえる。

また本研究で行った特殊条件下で培養した細胞のリボソームプロファイリングを遂行するにあたって、種々の条件で条件検討する必要がある。その条件検討の一環としてリボソームプロファイリングを使った関連研究の成果を発表した。

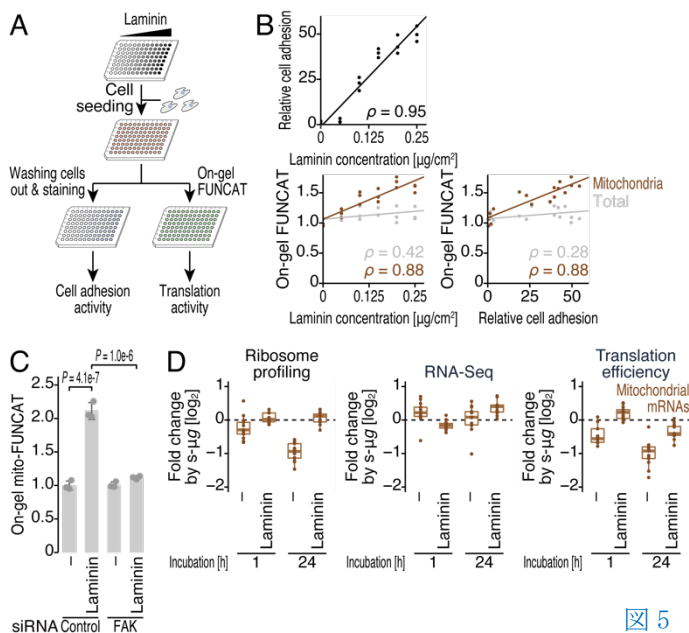


図 5

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yoshimoto Rei, Chhipi-Shrestha Jagat K., Schneider-Poetsch Tilman, Furuno Masaaki, Burroughs A. Maxwell, Noma Shohei, Suzuki Harukazu, Hayashizaki Yoshihide, Mayeda Akila, Nakagawa Shinichi, Kaida Daisuke, Iwasaki Shintaro, Yoshida Minoru	4. 巻 S2451-9456
2. 論文標題 Spliceostatin A interaction with SF3B limits U1 snRNP availability and causes premature cleavage and polyadenylation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 00111-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chembiol.2021.03.002	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Higashi Haruka, Kato Yoshinobu, Fujita Tomoya, Iwasaki Shintaro, Nakamura Masayuki, Nishimura Yoshiki, Takenaka Mizuki, Shikanai Toshiharu	4. 巻 pcaa180
2. 論文標題 The Pentatricopeptide Repeat Protein PGR3 Is Required for the Translation of petL and ndhG by Binding Their 5' UTRs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 pcaa180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcaa180	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Chen Mingming, Asanuma Miwako, Takahashi Mari, Shichino Yuichi, Mito Mari, Fujiwara Koichi, Saito Hironori, Floor Stephen N., Ingolia Nicholas T., Sodeoka Mikiko, Dodo Kosuke, Ito Takuhiro, Iwasaki Shintaro	4. 巻 28
2. 論文標題 Dual targeting of DDX3 and eIF4A by the translation inhibitor rocaglamide A	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 475 ~ 486.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chembiol.2020.11.008	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Mito Mari, Mishima Yuichiro, Iwasaki Shintaro	4. 巻 1
2. 論文標題 Protocol for Disome Profiling to Survey Ribosome Collision in Humans and Zebrafish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 100168 ~ 100168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2020.100168	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Matsuki Yasuko, Matsuo Yoshitaka, Nakano Yu, Iwasaki Shintaro, Yoko Hideyuki, Udagawa Tsuyoshi, Li Sihan, Saeki Yasushi, Yoshihisa Tohru, Tanaka Keiji, Ingolia Nicholas T., Inada Toshifumi	4. 巻 10
2. 論文標題 Ribosomal protein S7 ubiquitination during ER stress in yeast is associated with selective mRNA translation and stress outcome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19669
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-76239-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Suzuki Takeo, Yashiro Yuka, Kikuchi Ittoku, Ishigami Yuma, Saito Hironori, Matsuzawa Ikuya, Okada Shunpei, Mito Mari, Iwasaki Shintaro, Ma Ding, Zhao Xuewei, Asano Kana, Lin Huan, Kirino Yohei, Sakaguchi Yuriko, Suzuki Tsutomu	4. 巻 11
2. 論文標題 Complete chemical structures of human mitochondrial tRNAs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-18068-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakazawa Kaori, Shichino Yuichi, Iwasaki Shintaro, Shiina Nobuyuki	4. 巻 295
2. 論文標題 Implications of RNG140 (caprin2)-mediated translational regulation in eye lens differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 15029 ~ 15044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.012715	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saeki Nozomu, Eguchi Yuichi, Kintaka Reiko, Makanae Koji, Shichino Yuichi, Iwasaki Shintaro, Kanno Manabu, Kimura Nobutada, Moriya Hisao	4. 巻 10
2. 論文標題 N-terminal deletion of Swi3 created by the deletion of a dubious ORF YJL175W mitigates protein burden effect in <i>S. cerevisiae</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66307-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Han Peixun, Shichino Yuichi, Schneider-Poetsch Tilman, Mito Mari, Hashimoto Satoshi, Udagawa Tsuyoshi, Kohno Kenji, Yoshida Minoru, Mishima Yuichiro, Inada Toshifumi, Iwasaki Shintaro	4. 巻 31
2. 論文標題 Genome-wide Survey of Ribosome Collision	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107610 ~ 107610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107610	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Tsuboyama Kotaro, Osaki Tatsuya, Matsuura-Suzuki Eriko, Kozuka-Hata Hiroko, Okada Yuki, Oyama Masaaki, Ikeuchi Yoshiho, Iwasaki Shintaro, Tomari Yukihide	4. 巻 18
2. 論文標題 A widespread family of heat-resistant obscure (Hero) proteins protect against protein instability and aggregation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Biology	6. 最初と最後の頁 e3000632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.3000632	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurihara Yukio, Makita Yuko, Shimohira Haruka, Fujita Tomoya, Iwasaki Shintaro, Matsui Minami	4. 巻 61
2. 論文標題 Translational Landscape of Protein-Coding and Non-Protein-Coding RNAs upon Light Exposure in Arabidopsis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 536 ~ 545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcz219	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Hia Fabian, Yang Sheng Fan, Shichino Yuichi, Yoshinaga Masanori, Murakawa Yasuhiro, Vandenbon Alexis, Fukao Akira, Fujiwara Toshinobu, Landthaler Markus, Natsume Tohru, Adachi Shungo, Iwasaki Shintaro, Takeuchi Osamu	4. 巻 20
2. 論文標題 Codon bias confers stability to human mRNAs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e48220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201948220	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Padron Alejandro, Iwasaki Shintaro, Ingolia Nicholas T.	4. 巻 75
2. 論文標題 Proximity RNA Labeling by APEX-Seq Reveals the Organization of Translation Initiation Complexes and Repressive RNA Granules	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 875 ~ 887.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2019.07.030	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Hirayama Hiroto, Matsuda Tsugiyu, Tsuchiya Yae, Oka Ritsuko, Seino Junichi, Huang Chengcheng, Nakajima Kazuki, Noda Yoichi, Shichino Yuichi, Iwasaki Shintaro, Suzuki Tadashi	4. 巻 294
2. 論文標題 Free glycans derived from O-mannosylated glycoproteins suggest the presence of an O-glycoprotein degradation pathway in yeast	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 15900 ~ 15911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.009491	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Fujita Tomoya, Kurihara Yukio, Iwasaki Shintaro	4. 巻 60
2. 論文標題 The Plant Translatome Surveyed by Ribosome Profiling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1917 ~ 1926
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcz059	査読の有無 有
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2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩崎信太郎
2. 発表標題 葉緑体翻訳と細胞質mRNA調節のシンクロナイゼーション
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩崎信太郎
2. 発表標題 Genome-wide survey of ribosome collision
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 七野悠一、岩崎信太郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 東京化学同人	5. 総ページ数 5
3. 書名 相分離生物学の全貌（現代化学増刊46）RNP顆粒研究を加速するトランスクリプトーム解析技術	

1. 著者名 木村悠介、岩崎信太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 3
3. 書名 実験医学2019年11月号 リボソームプロファイリングによる網羅的翻訳解析の最前線	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 非リボソームRNA含有試料の製造方法	発明者 水戸麻理、岩崎信太郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/043538	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 非リボソームRNA含有試料の製造方法	発明者 Mari Mito, Shintaro Iwasaki	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-211933	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

https://www.riken.jp/press/2021/20210330_1/
 スプライシング調節化合物がもたらす新たな作用を発見
https://www.riken.jp/press/2020/20201002_1/index.html
 翻訳阻害抗がん剤の二つ目の標的を同定
https://www.riken.jp/press/2020/20200831_1/index.html
 ヒトミトコンドリアtRNA修飾の全体像を解明
https://www.riken.jp/press/2020/20200506_1/index.html
 リボソームの交通渋滞を見つける方法
 光受容によるタンパク質の翻訳変化を解明 - 遺伝子の発現量調節への応用に期待 -
https://www.riken.jp/press/2020/20200316_1/index.html
 新しい糖鎖代謝機構の発見 - 未知の糖鎖分解酵素の同定への一歩 -
https://www.riken.jp/press/2019/20190711_1/

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
---------	---------