

令和元年6月20日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15062

研究課題名(和文) 新生ポリペプチド鎖によるリボソーム開裂現象の生理的意義と分子メカニズム解明

研究課題名(英文) Study of the mechanism of nascent polypeptide-induced translation abortion.

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) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：リボソームが負電荷アミノ酸を連続して連結する際に、確率的に発生する翻訳の途上終結現象(IRD：Intrinsic Ribosome Destabilization)の発生メカニズムを明らかにするため、生化学的、遺伝学的解析を行った。結果、翻訳伸長段階にのみ見られるある特徴的構造が70S翻訳複合体を安定化していること、またIRDはその構造を破断することで複合体の不安定化を誘起していることが示唆された。さらに解析の途上で、IRDは特異なタンパク質合成の起点となっていることも明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、遺伝子発現の最終過程である翻訳に内包される潜在的リスクと、それに対するカウンターメカニズムの存在が示唆された。一方で、そうしたリスクすら活用する生物の強かさも示唆され、近年揺らぎつつある1遺伝子：1タンパクの大原則に新たな視点を提供できるものと期待している。また、原核生物におけるタンパク質合成の限界の一端が明らかになったことで、工業的に有用な改変大腸菌株の作成についても新たな可能性が示されたものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Translation of consecutive negatively charged amino acid residues destabilizes 70S ribosome and stochastically aborts translation elongation. To reveal the mechanism of this phenomenon defined as intrinsic ribosome destabilization (IRD), I performed biochemical and genetics approach. Then I revealed that specific interactions within the translating 70S ribosome complex stabilize the complex itself, and IRD disrupts them. Furthermore, I revealed the possibility that IRD could induce not only translation abortion but also expansion of the interpretation of open reading frame (ORF).

研究分野：分子遺伝学

キーワード：タンパク質合成 リボソーム 新生ポリペプチド鎖 翻訳

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質合成装置リボソームは、細胞内の種々のタンパク質を万能に合成できると考えられてきた。しかし、リボソームが負電荷アミノ酸を連続的に翻訳すると、その途上で確率的に伸長を途上終結させることが申請者の過去の解析から明らかとなった。IRD(Intrinsic Ribosome Destabilization)と定義した同現象の発生メカニズム、生理学的意義は一切が不明であったため、これらについて明らかにすることを目標として研究を開始した。

### 2. 研究の目的

合成途上にある新生ポリペプチド鎖は、合成装置リボソーム内のトンネルを通過する途上で、相互作用を介してその活性を様々に制御する。こうしたリボソームの動態制御の新たな側面として見出したIRD現象について、その生理学的意義、発生メカニズムを明らかにし、生物のもつ遺伝子発現システムに対する理解を深めることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### IRDの生理学的意義

IRDの発生頻度が上昇する大腸菌 bL31 欠損株を用いて比較定量プロテオミクス解析(SWATH)を行い、IRDが寄与する生理経路を探索した。また並列で大腸菌負電荷アミノ酸の連続クラスターを含む大腸菌などの遺伝子についてIRDの有無を検討し、それらの遺伝子が持つ生理的意義とIRDとの関連を検討した。

#### IRDの発生メカニズム

生化学的、遺伝学的アプローチからIRDの発生メカニズムに迫った。IRDは翻訳素過程に必要な最小限の因子のみで再構成された試験管内翻訳系(PURE system)でも再現可能なため、同系に含まれる因子に着目した。翻訳関連遺伝子の大腸菌欠損株、変異株を作成し、lacZレポーター系を利用したIRD発生頻度評価系から、各遺伝子のIRDへの寄与を検討した。

### 4. 研究成果

(1) SWATH解析の結果、大腸菌細胞内のマグネシウム濃度恒常性維持にIRDが利用されていることを見出した(図1)。大腸菌マグネシウムトランスポーター*mgtA*の発現はupstream ORF *mgtL*によって制御される。申請者の解析から、*mgtL*の翻訳状態がN末端のIRD誘導モチーフ(EPDP)によって制御されること、IRD発生頻度がマグネシウム濃度に応答することが明らかとなった。

(2) 配列情報から、IRDを誘起すると予想される大腸菌などの遺伝子について個別解析を行った。その結果、あるウイルス遺伝子に見られる特異な翻訳動態のトリガーの一つとしてIRDが利用されていることを見出した(図2)。このテーマとその拡張性の可能性については、新たな科研費研究計画(19K16038)で引き続き解析を進めていく。

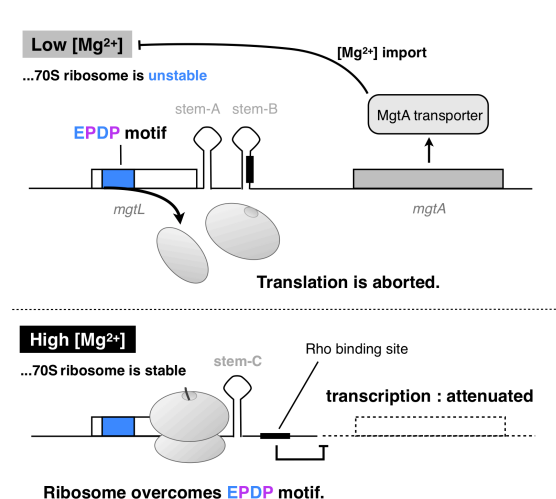


図1 IRDによる *mgtA* 発現制御機構

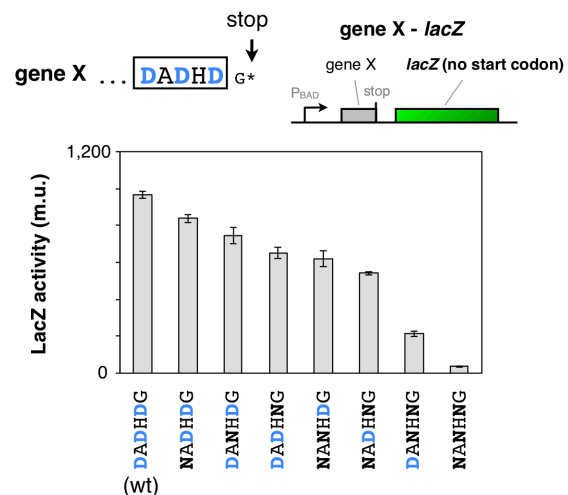


図2 IRDにより拡張されるリボソームの翻訳領域(ORF)

(3) 図3に示すレポーター実験系から、翻訳素過程に参画する因子がIRD発生に寄与する程度を評価した。その結果、transfer RNA(tRNA)分子に関連した遺伝子群の変異において優位にIRD発生頻度が上昇する結果を得た。この結果から、IRDは翻訳伸長を行うリボソーム複合体にのみ見られる相互作用を破綻させ、複合体の破綻から始まる途上終結を誘起していることが示唆された。この結果については現在(2019年現在)論文化を進めている。

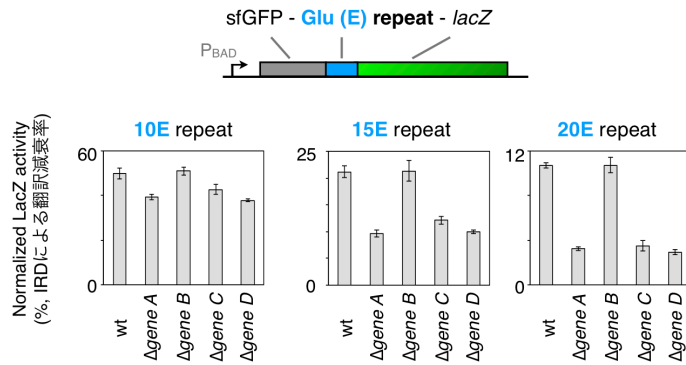


図 3 レポーター系を利用した IRD 関連因子の探索

IRD を誘起するグルタミン酸 (E) リピート下流に連結した *lacZ* レポーターの発現量から、各変異株における IRD 発生頻度を算出した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

2017 年

1. [Chadani Yuhei](#), Niwa Tatsuya, Izumi Takashi, Sugata Nobuyuki, Nagao Asuteka, Suzuki Tsutomu, Chiba Shinobu, Ito Koreaki, Taguchi Hideki

Intrinsic Ribosome Destabilization Underlies Translation and Provides an Organism with a Strategy of Environmental Sensing.

Molecular Cell 68, 528 – 539. e5 査読有り

2018 年

2. 田口 英樹、[茶谷 悠平](#)、千葉 志信、伊藤 維昭

終止コドンに依らず翻訳を途中終了させる酸性アミノ酸の連続配列

バイオサイエンスとインダストリー 76, 239-241 査読無し

3. [茶谷 悠平](#)、千葉 志信、伊藤 維昭、田口 英樹

翻訳途上の新生ポリペプチド鎖が引き起こすリボソームの不安定化とその生理的意義

実験医学 36, 1364-1367 査読無し

2019 年

4. 田口 英樹、[茶谷 悠平](#)、丹羽 達也

翻訳伸長ダイナミクスと新生鎖フォールディング

生物物理 59 (3), 137-140 査読無し

〔学会発表〕 (計 2 件)

2017 年

1. [Yuhei Chadani](#), Tatsuya Niwa, Takashi Izumi, Nobuyuki Sugata, Asuteka Nagao, Tsutomu Suzuki, Shinobu Chiba, Koreaki Ito and Hideki Taguchi

Widespread nascent chain-mediated translational pausing and intrinsic ribosome destabilization

第 69 回日本細胞生物学会大会(招待講演)

2019 年

2. [Yuhei Chadani](#), Tatsuya Niwa, Takashi Izumi, Nobuyuki Sugata, Asuteka Nagao, Tsutomu Suzuki, Shinobu Chiba, Koreaki Ito and Hideki Taguchi

Intrinsic Ribosome Destabilization Underlies Translation and Provides an Organism with a Strategy of Environmental Sensing.

Ribosome meeting 2019 (国際学会)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

合成途上のタンパク質が故意に合成を中断する現象を発見 —細胞内の環境変化を感知する新たなしくみ—

<https://www.titech.ac.jp/news/2017/039773.html>

翻訳の途上の新生ポリペプチド鎖がひき起こすリボソームの不安定化および環境のセンサーとしての利用

<http://first.lifesciencedb.jp/archives/17459>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。