

令和 2 年 6 月 6 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19468

研究課題名(和文)tRNAニューロバイオロジーの創出

研究課題名(英文)Generation of tRNA neurobiology

研究代表者

田中 元雅(TANAKA, Motomasa)

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：40321781

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):精神機能には神経細胞での翻訳が深く関わる。しかし神経細胞において、どのようなtRNAがリボソームの中に入って実際の翻訳に使われているのかは、技術的な問題のため不明な点が多い。本研究では、リボソームに取り込まれたmRNAとtRNAを解析するため、新たな網羅的な塩基配列解析技術およびバイオインフォマティクスツールの開発を行った。この手法を用いてヒト疾患モデルマウス脳の翻訳解析を行った結果、性質が野生型とは異なるtRNA種や特徴的な翻訳のリズムを示す遺伝子の一群が疾患に関わる可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

翻訳の異常は認知や記憶の障害などの精神機能の異常につながるため、本研究で見出した成果は、新たな疾患治療薬の開発に道を拓くと考えられる。さらには、本研究で開発した新たな網羅的な塩基配列解析技術およびバイオインフォマティクス技術は、神経疾患研究を含む神経科学研究に広く応用が可能である。したがって、翻訳異常がその病態発症に関わると示唆されている神経系疾患のモデルマウスや神経細胞に将来適用することで、それら疾患の発症機序の解明に役立つと期待される。

研究成果の概要(英文): Translation of mRNA is involved in mental function. However, it remains unclear what tRNA species are incorporated into ribosome for translation due to the lack of technology. Here we developed a novel deep sequencing technology and bioinformatics tools to examine roles of tRNA in translation. We revealed by this technology that distinct tRNA species and specific synaptic genes with altered translation rhythms are associated with pathogenesis of human brain disorders.

研究分野：構造神経科学

キーワード：翻訳 tRNA mRNA 神経細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

不安や恐怖などのヒトの精神状態には神経細胞における、新規な翻訳、つまりタンパク質の新規な合成が深く関わる(Bocchio et al., *Neuron*, 94, 731-743 (2017); Endo, R. et al., *Biol. Psychiatry*, 84, 509-521 (2018))。したがって、精神機能の理解には翻訳過程の詳細な解析が不可欠であると考えられるものの、翻訳解析の技術がまだまだ十分ではないため、神経細胞における翻訳過程には不明な点が多い。これまでに我々は、生命活動の中心的な役割を果たす mRNA の翻訳過程を明らかにするために、出芽酵母を用いて tRNA の網羅的翻訳解析を行ってきた(Chen et al., *Cell Reports*, 23, 608-621 (2018))。しかし、ヒトやマウスの tRNA に関する tRNA の網羅的翻訳解析はその高い類似性のため、いまだ不十分であった。

翻訳は mRNA の遺伝情報に基づいて、tRNA という言わばタンパク質合成のための部品が順次リボソームに取り込まれ、ポリペプチド鎖が合成されていく。したがって、精神活動が神経細胞内の tRNA の量や質(修飾など)を変化させることで、翻訳を制御している可能性がある。また、精神障害をもたらす tRNA の遺伝子変異も知られている(Sarin et al., *RNA Biol.*, 11, 1555-1567, (2014))。しかし重要なことに、mRNA のコドンと tRNA のコドンは 1 対 1 で対応しているわけでないため、単に mRNA の遺伝情報(塩基配列)を見ているだけでは、実際の翻訳に使われる tRNA の情報は得られないという問題があった。

以上から、本研究では、恐怖や不安などの精神活動の変化が、特定の脳領域の神経細胞における mRNA および tRNA の量や質にどのような変化を与えるかを定量的に解析することで、その精神活動の実態を明らかにすることを目的とする。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、mRNA の翻訳過程に着目し、精神機能の分子レベルでの理解に挑戦する。不安や恐怖などの精神機能には、神経細胞での新規なタンパク質合成が深く関わることを示唆されている。その新規なタンパク質合成、つまり翻訳過程においては、遺伝情報を担う mRNA だけでなく、タンパク質を作り出すための部品となる tRNA もリボソームに取り込まれることから、翻訳過程において中心的な役割を果たす。しかし、神経細胞において、神経活動に依存して tRNA の量や質(修飾)がどのような変化しているのか、また、どのような tRNA がリボソームの中に入って実際の翻訳に使われているのかは、技術的な多くの問題もあるため、その詳細には不明な点が多い。そこで、本研究では、新たな網羅的な塩基配列解析技術はもとより、特に、各種バイオインフォマティクスツールの開発を通して、おもに tRNA に焦点を絞った遺伝子発現解析と翻訳解析手法から、マウスの精神行動(恐怖や不安に関連する行動)の試験を行い、その行動に伴う tRNA や mRNA の量や質の変化を網羅的かつ統計的に、かつ一塩基レベルの高精度に解析する技術を開発する。

以上から、本研究は、哺乳動物の精神活動を tRNA を指標として調べるための実験系を開拓し、精神機能を“神経細胞内の tRNA の量と質”をアウトプットとして明らかにできるかを検討することが目的である。

### 3. 研究の方法

リボソームに取り込まれた mRNA だけでなく tRNA をも解析するため、新たな網羅的 tRNA 塩基配列解析技術およびバイオインフォマティクスのツール開発を通じて精神機能を明らかにする。特に、ヒトやマウスにおいて、高度に類似した各種の tRNA 配列を精度高く分類することで定量性の正確さを格段に向上させ、さらに、各 tRNA に含まれる各種修飾の量や種類を定量的に解析するためのバイオインフォマティクスのツールを開発した。また、ヒトおよびマウスの培養細胞や、生きた遺伝子改変マウスの脳を用いて、脳領域・神経細胞特異的に tRNA の遺伝子発現や実際の翻訳に使われている tRNA を調べるための様々な実験手法を新たに開発した。さらに、行動に伴って、mRNA および tRNA の種類や量がどのように変化したかを定量的に調べるための、様々な独自のバイオインフォマティクスのツールの開発も併せて行った。

それによって、次世代シーケンサーによって網羅的に塩基配列を読むことによって、mRNA だけでなく tRNA をより正確に同定、解析し、tRNA の発現量、翻訳使用率や各種修飾を網羅的に決定する一連の実験およびデータ解析技術を確立させた。

### 4. 研究成果

これまでに発芽酵母を用いて開発してきた新たな mRNA および tRNA 塩基配列技術、およびバイオインフォマティクスのツール(Chen et al., *Cell Reports*, 23, 608-621 (2018))を基盤にして、培養細胞や神経細胞の翻訳状態の解析をリボソームに結合した mRNA だけでなく tRNA から同時に行った。さらに、培養レベルだけでなく、生きたマウスの様々な領域の脳を取り出し、ライブラリーを作成し、特異的に tRNA の遺伝子発現や実際の翻訳に使われている tRNA を調べるための様々な実験手法の開発を行った。さらに、tRNA の各種修飾や発現量を網羅的かつ、定量的に決定するためのバイオインフォマティクスのツールの開発と改良をさらに適宜、進める

ことで、マウスおよびヒトのすべての tRNA 種について定量的な解析が可能になった。これらの新規な手法を用いて、正常マウスおよび精神・神経変性疾患モデルなどのヒト疾患モデルマウスの翻訳解析を行った。その結果、両方で性質が異なる tRNA 種を見出し、また、特徴的な翻訳のリズムを示す遺伝子一群を、定量的な翻訳解析から見出した。さらには、翻訳のリズムに関わるような特徴的な均一性および不均一性を示すシナプス遺伝子一群を見出した。これらの分子メカニズムを明らかにするために様々なより深いデータ解析を進めたところ、遺伝子の本来持つ性質や遺伝子座などの特徴がそれらの翻訳リズムの性質に相関することを見出した。以上から、各遺伝子には、このような翻訳リズムの情報が潜在的に刷り込まれていることを示唆した。

さらに、これまでに開発してきた mRNA および tRNA 塩基配列を調べるための新たな技術、およびその塩基配列を一塩基レベルでより詳しく調べるためのバイオインフォマティクスのツールを開発し、遺伝子改変マウス脳などを用いてさらなる翻訳解析を行った。特に、認知機能に障害モデルの生きたマウスを用いて行動試験を行い、その行動に連動した翻訳プロファイルを調べることで精神障害の発現機序の解明を目指した。その結果、驚くべきことに、その精神障害モデルマウスでは、野生型のマウスと比べて、神経関連遺伝子のごく一部に、翻訳パターンの顕著な障害がみられることを新たに見出した。また、その神経関連遺伝子はシナプス機能の維持に必須の遺伝子群であった。さらに興味深いことに、それらの翻訳のリズムのマウス間での違いが、行動に連動しさらに変調をきたすことを見出した。また、これらの結果から明らかになった、翻訳モードが著しく異なる遺伝子群に関して、培養神経細胞でもその翻訳モードが異なることが示唆された。これらの結果は、ある神経関連遺伝子群において、タンパク質の「量」よりも「質」の違いが、認知・精神発達障害に関わることを示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Endo, R., Takashima, N., Nekooki-Machida, Y., Komi, Y., Hui, K.K., Takao, M., Akatsu, H., Murayama, S., Sawa, A., and Tanaka, M.	4. 巻 84
2. 論文標題 TDP-43 and DISC1 Co-Aggregation Disrupts Dendritic Local Translation and Mental Function in FTLD.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biol. Psychiatry	6. 最初と最後の頁 509-521
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.biopsych.2018.03.008	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 Hui, K.K., Chen, Y., Endo, R., Tanaka, M.	4. 巻 6
2. 論文標題 Translation from the ribosome to the clinic: Implication in neurological disorders and new perspectives from recent advances.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 680
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biom9110680	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 4件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Motomasa Tanaka
2. 発表標題 TDP-43 and DISC1 Co-Aggregation Disrupts Dendritic Local Translation and Mental Function in FTLD
3. 学会等名 International Symposium on “Proteins; from the Cradle to the Grave”（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Motomasa Tanaka
2. 発表標題 Impaired mRNA translation and mental function by protein aggregation in neuropsychiatric disorders
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japanese Neuroscience Society（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中元雅
2. 発表標題 タンパク質の凝集化と精神・神経変性疾患
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japanese Neuroscience Society (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中元雅
2. 発表標題 タンパク質の凝集化に着目した 精神・神経変性疾患の病態解明
3. 学会等名 Chemistry for Neuroscience (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Endo, R., Takashima, N., Tanaka, M. (Toyama, Y., Miyawaki, A., Nakamura, M., Jinzaki, M. (eds))	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer, Singapore 285	5. 総ページ数 285
3. 書名 Make Life Visible	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>タンパク質の共凝集化による精神障害の発現  <a href="http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180614_1/">http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180614_1/</a></p>
--

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