

## RNA 修飾が支配する遺伝子発現調節機構の探究と高次生命現象

Post-transcriptional regulation associated with RNA modifications responsible for higher order biological processes

鈴木 勉 (SUZUKI TSUTOMU)

東京大学・大学院工学系研究科・教授



### 研究の概要

生命の発生や細胞の分化、疾患などに代表される高次生命現象を解明するためには、遺伝子発現の調節機構を深く理解する必要がある。転写制御に加え、転写後における調節機構が、様々な生命現象の発現に重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。本プロジェクトでは転写後の遺伝子発現調節機構に着目し、ncRNA や mRNA が有する質的な側面、特に RNA の転写後修飾に着目し、RNA が関与する遺伝子発現調節機構の探究と様々な生命現象との関係について理解を深めることを目的とする。

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：RNA 修飾 RNA エディティング mRNA non-coding RNA

### 1. 研究開始当初の背景

様々な生命現象を解明するためには、遺伝子発現の調節機構を深く理解する必要がある。転写制御に加え、転写後における調節機構が、様々な生命現象の発現に重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。RNA は転写後に様々な修飾を受けて成熟し、はじめてその本来の機能を発揮する。これまでに知られている RNA 修飾は 100 種類を超えている。RNA 修飾は mRNA やあらゆる ncRNA に普遍的に存在し、RNA が機能する上でこれらの修飾は見逃すことのできない重要な質的情報である。RNA 修飾の果たす役割としては、細胞内局在の決定、立体構造の安定化、RNA 結合タンパク質との相互作用、遺伝情報の修飾と解読などが知られているが、その機能と生合成過程には未解明な部分が多く残されている。また化学構造が決定されていない RNA 修飾も数多く存在する。

### 2. 研究の目的

本研究は転写後の遺伝子発現調節機構に着目し、ncRNA や mRNA が有する質的な側面、特に RNA の転写後修飾に着目し、RNA が関与する遺伝子発現調節機構の探究と高次生命現象との関係について理解を深めることを目的とする。具体的には以下の3つのサブテーマから構成される。(1) RNA 修飾の網羅的探索と機能解析、(2) 低分子 RNA の末端修飾の解析と選択的安定化機構の解明、

(3) RNA 修飾遺伝子の解析と修飾異常に起因する疾患の探究

### 3. 研究の方法

本研究の効果的な推進のためには、個々の RNA 分子における修飾を詳細に解析する必要がある。私たちは、微量 RNA を単離精製し、解析するための2つの基盤的な技術を開発し、本研究に積極的に活用している。微量 RNA の単離法に関しては、往復循環クロマトグラフィー(RCC)法を用いている。私たちはこの手法を搭載した RNA 精製装置 (RCC 装置) を2台保有しており、目的の RNA 分子を全自動で単離精製することができる。また微量な RNA の解析に関しては、RNA の高感度質量分析法(RNA-MS)を活用している。これらの技術を駆使することで新規 RNA 修飾の構造決定や、修飾部位の同定を行う。また、修飾酵素の探索や RNA 修飾の試験管内再構成を行い、修飾形成の分子機構について理解を深める。さらに、生化学、分子遺伝学、構造生物学的な手法を用いることで RNA 修飾が関与する遺伝子発現調節機構を探究する。

### 4. これまでの成果

mRNA 修飾の中で、I 修飾は最も多くの研究がなされており、しばしば A-to-I RNA エディティングと呼ばれる。私たちは I 修飾部位を生化学的に検出するため、I 特異的な化学修飾と逆転写反応を組み合わせた Inosine

chemical erasing (ICE)法を開発することに成功した。さらに、ICE法と次世代シーケンサーを組み合わせた ICE-seq 法を開発した。ICE-seq 法を用い、ヒト成人脳において約 2 万箇所の新規 I 修飾部位を同定した。また I 修飾がイントロンのエキソン化を防ぐ役割があることを明らかにした。

tRNA に含まれる修飾塩基はタンパク質の生合成において重要な役割を担っている。本研究では、新規 tRNA 修飾塩基である“サイクリック t<sup>6</sup>A (ct<sup>6</sup>A)”を発見し、その化学構造を決定した。さらに、ct<sup>6</sup>A の生合成に必須な修飾酵素 TcdA を発見し、ct<sup>6</sup>A の試験管内合成に成功した。ct<sup>6</sup>A は tRNA のコドン認識能を補助し、タンパク質合成の効率を向上させる役割がある。この研究によって、1970 年代に決定された修飾構造 (t<sup>6</sup>A) は ct<sup>6</sup>A の分解物だったことが明らかとなり、まちがった化学構造に基づく 40 年来の研究を見直す必要がある。

DNA に書き込まれた遺伝暗号を正確に読み取るとは、すべての生命に課せられたもっとも根本的で重要なタスクである。私たちは、アーキア由来 tRNA<sup>le</sup> のアンチコドンから新規の修飾シチジンである 2-アグマチニルシチジン (agm<sup>2</sup>C) を発見した。また、agm<sup>2</sup>C 修飾により AUA コドンをイソロイシンへと正確に解読する機構を明らかとした。さらに agm<sup>2</sup>C 修飾酵素 TiaS を同定し、アグマチンと ATP を用いて試験管内での agm<sup>2</sup>C 修飾の再構成に成功した。詳細な反応機構の解析および tRNA<sup>le</sup>-TiaS 複合体の結晶構造解析から、TiaS が触媒するユニークな修飾形成機構が明らかとなった。さらに、TiaS は自身の活性サイトにある Thr 残基をリン酸化する活性があることが判明し、RNA とタンパク質の両方を基質にする新規のキナーゼであることも明らかとなった。

#### 5. 今後の計画

これまでの成果をさらに発展させる。サイクリック t<sup>6</sup>A と硫黄リレー系との関係、胞子形成時に増加する m<sup>6</sup>A 修飾の機能解析、miR-122 の 3'末端 A 付加が関与する選択的安定化機構の解明、RNA 修飾異常に起因する疾患の発症機構の解明や、新規 RNA 修飾の構造決定および機能解析などに総力を挙げて取り組む予定である。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む) (※原著論文全 27 報から抜粋)

Miyauchi, K., Kimura, S. and Suzuki, T. A cyclic form of N<sup>6</sup>-threonylcarbamoyladenosine as a widely distributed tRNA hypermodification *Nature Chem Biol.*, 9, 105-111 (2013)

Taniguchi, T., Miyauchi, K., Nakane, D., Miyata, M., Muto, A., Nishimura, S. and Suzuki, T. Decoding system for the AUA codon by tRNA<sup>le</sup> with the UAU anticodon

in *Mycoplasma mobile* *Nucleic Acids Res.*, 41, 2621-2631 (2013)

Chujo, T. and Suzuki, T. Trmt61B is a methyltransferase responsible for 1-methyladenosine at position 58 of human mitochondrial tRNAs *RNA*, 18, 2269-2276 (2012)

Kimura, S., Ikeuchi, Y., Kitahara, K., Sakaguchi, Y., Suzuki, T. and Suzuki, T. Base methylations in the double-stranded RNA by a fused methyltransferase bearing unwinding activity *Nucleic Acids Res.*, 40, 4071-4085 (2012)

Osawa, T., Terasaka, N., Kimura, S., Inanaga, H., Suzuki, T. and Numata, T. Structural basis of tRNA agmatinylation essential for AUA codon decoding *Nature Struct Mol Biol.*, 18, 1275-1280 (2011)

Terasaka, N., Kimura, S., Osawa, T., Numata, T. and Suzuki, T. Biogenesis of 2-agmatinylycytidine catalyzed by the dual protein and RNA kinase TiaS *Nature Struct Mol Biol.*, 18, 1268-1274 (2011)

Suzuki, T., Nagao, A. and Suzuki, T. Human mitochondrial tRNAs: biogenesis, function, structural aspects and diseases *Annu Rev Genet.*, 45, 299-329 (2011)

Wei, F., Suzuki, T., Watanabe, S., Kimura, S., Kaistuka, T., Fujimura, A., Matsui, H., Atta, M., Fontecave, M., Yamagata, K., Suzuki, T. and Tomizawa, K. Deficit of Lys-tRNA Modification by Cdkal1 Causes the Development of Type 2 Diabetes in Mice *J. Clin. Invest.*, 121, 3598-608 (2011)

Ohira, T. and Suzuki, T. Retrograde nuclear import of tRNA precursors is required for modified base biogenesis in yeast *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 108, 10502-10507 (2011)

Noma, A., Yi, S., Katoh, T., Takai, Y., Suzuki, T. and Suzuki, T. Actin-binding protein ABP140 is a methyltransferase responsible for 3-methylcytidine at position 32 of tRNAs in *Saccharomyces cerevisiae* *RNA*, 17, 1111-1119 (2011)

Sakurai, M., Yano, T., Kawabata, H., Ueda, H. and Suzuki, T. Inosine cyanoethylation identifies A-to-I RNA editing sites in the human transcriptome *Nature Chem Biol.*, 6, 733-740 (2010)

Noma, A., Ishitani, R., Kato, M., Nagao, A., Nureki, O. and Suzuki, T. Expanding role of the Jumonji C domain as an RNA hydroxylase *J. Biol. Chem.*, 285, 34503-34507 (2010)

第 9 回 (平成 24 年度) 日本学術振興会賞受賞 (2012 年 12 月) 「高感度質量分析による RNA の直接解析と生命現象へのアプローチ」ホームページ等

[http://rna.chem.t.u-tokyo.ac.jp/index\\_j.html](http://rna.chem.t.u-tokyo.ac.jp/index_j.html)