

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成29年度研究進捗評価用〕

平成26年度採択分
平成29年3月17日現在

RNA エピジェネティクスと高次生命現象

RNA modifications associated with biological processes

課題番号：26220205

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

複雑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。RNAは転写後に様々な修飾を受けることが知られているが、修飾酵素の発現量や基質となるメタボライトの濃度で調節される。また、RNA修飾の異常は疾患の原因になることが知られている。本研究ではRNA修飾による遺伝子発現調節機構の探究と、様々な生命現象について理解を深めることを目的とする。

研究分野：複合領域

キーワード：生体分子の化学修飾

1. 研究開始当初の背景

生命の発生や細胞の分化、複雑な精神活動に代表される高次生命現象は、遺伝子発現の微調整によって生じる。また、これら調節機構の破綻が、様々な疾患の原因になることが知られている。したがって、遺伝子発現の調節機構を解明することは、生命活動や生命現象を理解する上で最も重要な課題の一つであり、将来的に医療や創薬などの応用研究へもつながることが期待される。RNAは転写後に様々な修飾を受けることが知られており、もはやゲノム配列から知りうる情報だけでRNAの機能は語れない状況にある。また、RNA修飾は修飾酵素の発現量や基質となるメタボライトの濃度で制御され、時空間的に変化することから、最近ではRNAエピジェネティクスあるいはエピトランスクリプトームと呼ばれている。さらにRNA修飾の異常は、ヒトの疾患の原因になることが知られ、RNA修飾病という概念が定着しつつある。

2. 研究の目的

本研究ではRNA修飾が関与する生命現象を明らかにするとともに、RNA修飾病の発症機構を解明することを目的とする。具体的には、(1) RNAエピジェネティクス情報の探索と機能解析、(2) RNA修飾異常に起因する疾患の発症メカニズム、(3) DNAエピジェネティクスとRNAエピジェネティクスのクロスロードの探究、から成る三つのサブテーマを有機的に連携させながら、転写後における遺伝子発現調節機構の基盤的知見を見出し、生命科学におけるパラダイムシフトを目指す。

3. 研究の方法

細胞に存在する微量なRNAを単離精製し、RNAの高感度分析技術であるRNAマスペクトロメトリー(RNA-MS)およびRNAケミカルバイオロジーの要素を取り入れた新しい手法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ことでRNAエピジェネティクス情報をあぶりだす。また、RNA修飾酵素の同定や、RNA修飾に必要な代謝物を特定し、修飾反応の試験管内再構成を行うことで、修飾形成の分子機構について理解を深める。また、RNA修飾酵素やその関連遺伝子のノックアウト細胞やマウスを作成し、生化学的かつ遺伝学的な手法を用いて、RNA修飾異常に起因する疾患(RNA修飾病)の発症機構の研究を行う。

4. これまでの成果

バクテリアリボソームの生合成において、数あるrRNA修飾のうち、RlmEによる23S rRNA上のたった一か所のメチル化修飾(Um2552)が、45S前駆体から50Sサブユニットへの成熟を促進する役割があることを示した(Arai et al., 2015)。これまで、非酵素的なリボソーム粒子のアッセムブリーについてはたくさんの研究がなされてきたが、この成果は、アッセムブリー因子の酵素活性によってリボソーム生合成の一部を再現した初めての知見であり、この分野の進展に大きなインパクトを与えた。また、このメチル化の修飾率が変化することで、リボソームの生合成が調節されるという非常に興味深い知見を得ている。さらに、真核生物18S rRNA

の ac⁴C 修飾に関しても、その修飾酵素 (RRA1/NAT10) が核内アセチル CoA の濃度を感知することで rRNA 前駆体のプロセッシングおよび 40S サブユニットの成熟を制御するという興味深い知見を得た (Ito et al., 2014ab)。これらの成果はこれまでに static で stable と考えられていた RNA 修飾が、細胞内のメタボライト濃度を感知してダイナミックに変化することで、様々な生命現象に関わるという全く新しい概念を提唱するものである。

遺伝暗号の解読を司る tRNA は転写後に多様な修飾を受けることで成熟し、本来の機能を発揮する。私たちは出芽酵母から様々な tRNA 前駆体 (pre-tRNA) を単離し、RNA-MS により、tRNA 修飾の詳細な解析を行ったところ、5' リーダー配列を持つ pre-tRNA の 5' 末端にメチル化グアノシンキャップ構造が付加されていることを発見した (pre-tRNA capping)。一般にキャップ構造は RNA ポリメラーゼ II の転写と共役して導入されることが知られているが、tRNA は RNA ポリメラーゼ III の転写産物であり、この発見は、これまでの常識を覆す知見である。遺伝学的な解析から、このキャップ構造は、pre-tRNA を 5' エキソヌクレアーゼによる分解から保護している役割があることが明らかとなった (Ohira and Suzuki, 2016)。

ヒトのミトコンドリアには、核とは独立した独自の mtDNA と遺伝情報発現系がある。ミトコンドリアは変則的な遺伝暗号を用いており、通常は Ile をコードする AUA コドンが Met に暗号変化している。ミトコンドリア tRNA^{Met} のアンチコドンには 5-ホルミルシチジン (f⁵C) が存在し、この修飾によって、tRNA^{Met} が AUA コドンを Met に解読することが可能になる。私たちは代謝ラベルにより、f⁵C のホルミル基はメチオニンのメチル基に由来することを見出した。候補となるメチル化酵素をスクリーニングしたところ、機能未知であった NSUN3 が AdoMet を基質として tRNA^{Met} のアンチコドン 1 字目に 5-メチルシチジン (m⁵C) を導入することを明らかにした。ヒト培養細胞で NSUN3 遺伝子を破壊したところ、ミトコンドリアタンパク質合成能および呼吸鎖活性の顕著な低下が観測された。これらの結果から、f⁵C 修飾はミトコンドリアの機能に不可欠であることが判明した (Nakano et al., 2016)。

5. 今後の計画

これまでの成果をさらに発展させる。現在解析中の新規 RNA 修飾に関して、化学構造の決定と機能解析を行う。また、RNA 修飾酵素を同定し、RNA 修飾の生合成や生理学的意義にアプローチする。ケミカルバイオロジー的な手法を駆使することで、mRNA 上の RNA 修飾を網羅的に探索する手法を確立す

る。さらに、基質となる細胞内メタボライトに応じて変動する RNA 修飾についての解析を行い、RNA 修飾が生育環境やメタボライト濃度を感知することで変動し、遺伝子発現を制御するというエピトランスクリプトーム研究における新しい概念の確立を目指す。

6. これまでの発表論文等 (※原著論文全 32 報から抜粋)

Ohira, T. and Suzuki, T. Precursors of tRNAs are stabilized by methylguanosine cap structures.

Nature Chem Biol., 12, 648-655 (2016)

Nakano, S.[†], Suzuki, T.[†], Kawarada, L., Iwata, H., Asano, K. and Suzuki, T. NSUN3 methylase initiates 5-formylcytidine biogenesis in human mitochondrial tRNA^{Met}.

Nature Chem Biol., 12, 546-551 (2016)

Frye, M., Jaffrey, S., Pan, T., Rechavi, G. and Suzuki, T. RNA modifications: what have we learned and where are we headed?

Nature Rev Genet., 17, 365-372 (2016)

Sakai, Y., Miyauchi, K., Kimura, S. and Suzuki, T. Biogenesis and growth phase-dependent alteration of 5-methoxycarbonylmethoxyuridine in tRNA anticodons.

Nucleic Acids Res. 44, 509-523 (2016)

Wu, Y., Wei, F-Y, Kawarada, L., Suzuki, T., Araki, K., Fujimura, A., Kaitsuka, T., Oike, Y., Suzuki, T., and Tomizawa, K. Mtu1-mediated thiouridine formation of mitochondrial tRNAs is required for mitochondrial translation and is involved in reversible infantile liver.

PLOS Genet., 12(9), e1006355 (2016)

Arai, T., Ishiguro, K., Kimura, S., Sakaguchi, Y., Suzuki, T. and Suzuki, T. Single methylation of 23S rRNA triggers late steps of 50S ribosomal subunit assembly.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 112, E4707-E4716 (2015)

Ito, S., Akamatsu, Y., Noma, A., Kimura, S., Miyauchi, K., Ikeuchi, Y., Suzuki, T. and Suzuki, T. A single acetylation of 18S rRNA is essential for biogenesis of the small ribosomal subunit in *Saccharomyces cerevisiae*.

J. Biol. Chem., 289, 26201-26212 (2014)

Suzuki, T. and Suzuki, T. A complete landscape of post-transcriptional modifications in mammalian mitochondrial tRNAs.

Nucleic Acids Res. 42, 7346-7357 (2014)

ホームページ等

<http://rna.chem.t.u-tokyo.ac.jp/ts@chembio.t.u-tokyo.ac.jp>