



2023年1月10日

東京大学

名古屋大学

自然科学研究機構生命創成探究センター

科学技術振興機構

リボソームの異常な交通渋滞を選別するしくみを解明 ——高速 AFM を用いて品質管理を司る複合体の動きを可視化——

1. 発表者：

松尾 芳隆（東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野 准教授）

内橋 貴之（名古屋大学大学院理学研究科／自然科学研究機構生命創成探究センター 教授）

稲田 利文（東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ RQT 複合体の構成タンパク質である Cue3 と Rqt4 が、異常な衝突リボソームに形成される K63 型のユビキチン鎖を識別することを発見しました。
- ◆ 1 分子レベルの動態を可視化できる高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）を用いて、RQT 複合体の動き、特に運動性の高い天然変性領域の可視化に成功しました。
- ◆ 本成果は、品質管理機構の破綻が原因とされる神経変性疾患などの発症機序の理解や新規治療戦略の開発に繋がることが期待されます。

3. 発表概要：

東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野の松尾芳隆准教授、稲田利文教授らの研究グループは、名古屋大学理学研究科の内橋貴之教授(自然科学研究機構生命創成探究センター客員教授兼任)と共同でリボソーム^{注1}の異常な交通渋滞を選別するしくみを解明しました。

リボソームは、mRNA の遺伝情報を読み取ってタンパク質を合成する「翻訳」を行なう装置であり、翻訳を停止したリボソームに後続のリボソームが衝突することによってリボソームの交通渋滞が起こります。細胞内でリボソームの交通渋滞が蓄積すると様々なストレス応答が誘導されます。一方で過剰なストレス応答を防ぐために、細胞はリボソームの交通渋滞を解消する品質管理機構を備えています。品質管理因子である Hel2 はリボソームの衝突を識別し、異常翻訳の目印としてユビキチン^{注2}を付加します。このユビキチン化が目印となり、RQT(Ribosome Quality control Trigger)複合体^{注3}が衝突リボソームを強制的にサブユニット解離させることで交通渋滞を解消します。リボソームのユビキチン化は衝突リボソームの除去に必須ですが、それを識別する分子機構は十分に理解されていませんでした。

本研究グループは、生化学的手法を用いて衝突リボソームに K63 型のユビキチン鎖が形成され、それを RQT 複合体の構成タンパク質である Cue3 と Rqt4 が識別することを発見しました。さらに、1 分子レベルの動態を可視化できる高速 AFM^{注4}を用いて、RQT 複合体の動き、特に運動性の高い天然変性領域の可視化に成功しました。

本成果は、品質管理機構の破綻が原因とされる神経変性疾患などの発症機序の理解や新規治療戦略の開発に繋がることが期待されます。

本研究は、科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業さきがけ“細胞の動的・高次構造体”領域（課題番号：JPMJPR21EE、研究代表者：松尾芳隆）、日本学術振興会科学研究費助成事業（課題番号：21H00267、21H05710、22H02606、松尾芳隆；21H01772、21H00393、内橋貴之；19H05281、21H05277、22H00401、稲田利文）、日本医療研究開発機構（AMED-CREST 課題番号：20gm1110010h0002、研究代表者：稲田利文）などの支援を受けて行われました。

本研究成果は2023年1月10日（火）（イギリス時間）、英国科学誌「*Nature Communications*」のオンライン版で公開されます。

4. 発表内容：

<研究の背景>

細胞内のタンパク質は時として異常性を獲得しますが、細胞は産生された不良タンパク質を処理し、細胞内の恒常性を維持する機能を備えています。その一例が、異常な翻訳停滞を識別し、途中まで合成された新生ペプチド鎖を分解する品質管理機構 RQC(Ribosome-associated Quality Control)^{注5}です。先行研究では、RQC に関与する遺伝子の欠損が神経変性疾患などの原因になることが報告されています。

RQC のセンサータンパク質である Hel2 は、異常翻訳の実体である衝突リボソームの衝突面に形成された特異な構造を認識し、翻訳異常の目印として衝突リボソームにユビキチンを付加します（図1）。ユビキチン化されたリボソームは、RQT(Ribosome Quality control Trigger)複合体に認識され、強制的なサブユニット解離が誘導されます（図1）。その後、途中まで合成された新生ペプチド鎖はユビキチン-プロテアソーム系^{注6}によって分解されます（図1）。近年、衝突リボソームの蓄積が Hel2 とは異なるセンサータンパク質によって認識され、アポトーシス^{注7} 自己免疫応答^{注8} などの様々な細胞応答を誘導・促進することが明らかになってきました。そのため、リボソームの交通渋滞を解消する品質管理機構は、不良タンパク質の産生を防ぐだけでなく、過剰なストレス応答を抑える役目を担うこともわかってきました。一方で品質管理機構の誘導起点となる停滞リボソームのユビキチン化を識別する分子機構には不明な点が多く残されていました。

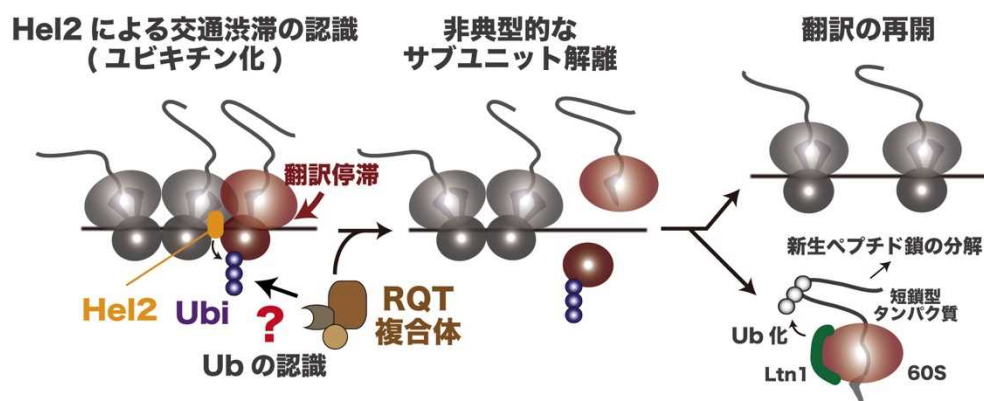


図1：品質管理機構 RQC の分子機構

<研究の内容>

本研究では、試験管内で翻訳停滞によるリボソームの交通渋滞を再現し、停滞リボソームに形成されるユビキチン鎖を調べた結果、Hel2によって衝突リボソームにK63型のユビキチン鎖が付加されることを見いだしました(図2)。さらに、生化学的手法を用いてRQT複合体の構成タンパク質である2種類のアクセサリタンパク質Cue3とRqt4がK63型のユビキチン鎖を特異的に識別することで、RQT複合体の活性中心であるRNAヘリカーゼSlh1が衝突リボソームへリクルートされることを明らかにしました(図2)。

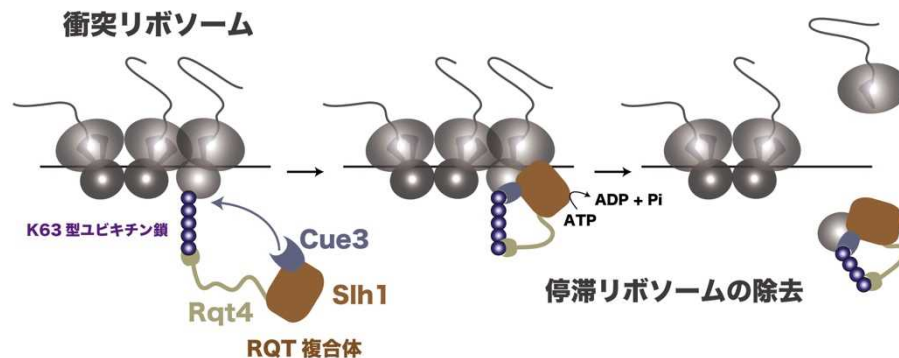


図2：RQT複合体によるユビキチン化リボソームの識別機構

これまで、衝突リボソームや品質管理因子の構造解析では主にクライオ電子顕微鏡^{注9}用いられており、動的な領域の可視化は困難を極めていました。本研究では1分子レベルの動態を可視化できる高速AFMを用いて、RQT複合体の動き、特に“運動性の高い天然変性領域^{注10}の可視化”に成功しました(図3)。RQT複合体のアクセサリタンパク質であるRqt4は天然変性領域に富んだタンパク質であり、触手のように動くことで、ユビキチン鎖を探索する様子が観察されました(図3：<https://youtu.be/SCmbj6T41X8>)。

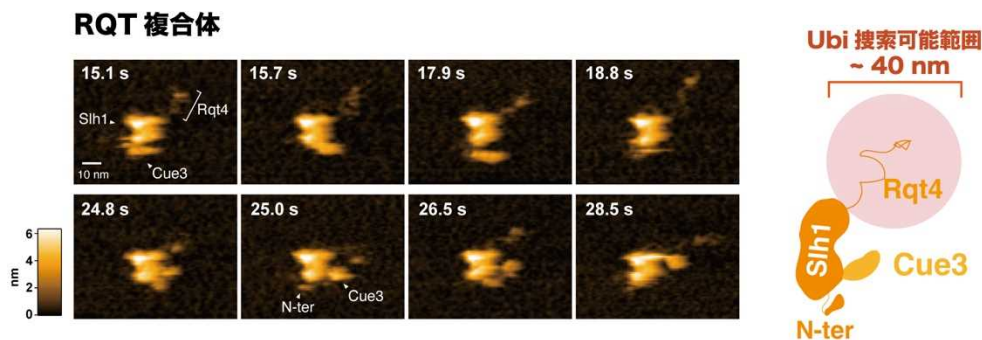


図3：高速AFMによるRQT複合体の動態観察

高速AFMによって、天然変性領域に富んだRqt4が広範囲に動きまわる様子が観察された。

<今後の展開>

品質管理機構RQCに関与する因子の欠損や機能不全が、神経変性疾患などの様々な疾患の原因になることが報告されています。本成果は、品質管理機構の破綻が原因とされる神経変性疾患などの発症機序の理解や新規治療戦略の開発に繋がることが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Nature Communications」

論文タイトル：Decoding of the ubiquitin code for clearance of colliding ribosomes by the RQT complex

著者：Yoshitaka Matsuo*, Takayuki Uchihashi and Toshifumi Inada*

*共同責任著者

DOI：10.1038/s41467-022-35608-4

URL：https://www.nature.com/articles/s41467-022-35608-4

6. 問い合わせ先：

<研究に関すること>

東京大学 医科学研究所 RNA 制御学分野

准教授 松尾 芳隆 (まつお よしたか)

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1

Tel：03-5449-5279 Fax：03-5449-5421

E-mail：yoshitaka-matsuo[at]g.ecc.u-tokyo.ac.jp

東京大学 医科学研究所 RNA 制御学分野

教授 稲田 利文 (いなだ としふみ)

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1

Tel：03-5449-5276 Fax：03-5449-5421

E-mail：toshiinada[at]ims.u-tokyo.ac.jp

名古屋大学大学院理学研究科／自然科学研究機構生命創成探究センター

教授 内橋 貴之 (うちはし たかゆき)

〒464-8602 愛知県名古屋市千種区不老町

Tel：052-789-2885 Fax：052-789-2436

E-mail：uchihast[at]d.phys.nagoya-u.ac.jp

<JSTの事業に関すること>

保田 睦子 (やすだ むつこ)

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K's 五番町

Tel：03-3512-3526 Fax：03-3222-2064 E-mail：presto[at]jst.go.jp

<報道に関すること>

東京大学医科学研究所 国際学術連携室 (広報)

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1

Tel：090-9832-9760

E-mail：koho[at]ims.u-tokyo.ac.jp

東海国立大学機構 名古屋大学広報室
Tel : 052-789-3058
E-mail : nu_research[at]adm.nagoya-u.ac.jp

自然科学研究機構 生命創成探究センター 研究戦略室
Tel : 0564-59-5885
E-mail : press[at]excells.orion.ac.jp

科学技術振興機構 広報課
〒102-8666 東京都千代田区四番町 5 番地 3
Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432
E-mail : jstkoho[at]jst.go.jp

7. 用語解説 :

- 注1 リボソーム : メッセンジャーRNA (mRNA) の持つ遺伝情報に従ってアミノ酸同士を結合させ、タンパク質を合成する装置。タンパク質と RNA から構成される巨大な複合体である。
- 注2 ユビキチン : ユビキチンは 76 アミノ酸からなる低分子タンパク質である。ユビキチンが他のタンパク質のリジン残基に共有結合で付加されると、タンパク質の活性を制御したりプロテアソームによって認識され分解されたりする。
- 注3 RQT 複合体 : RNA ヘリカーゼと 2 種類のユビキチン結合タンパク質からなる複合体。衝突リボソームを除去する活性をもつ。
- 注4 高速 AFM : 探針と試料の間に働く原子間力を基に分子の形状をナノメートル (10⁻⁹ m) 程度の高い空間分解能で可視化する走査型顕微鏡。
- 注5 品質管理機構 RQC : RQC(Ribosome-associated Quality Control)は、異常な翻訳停滞を認識し、停滞したリボソームを mRNA 上から除去すると共に不良タンパク質を分解へ導く機構である。
- 注6 ユビキチン-プロテアソーム系 : 異常なタンパク質にユビキチンを付加し、それを目印に分解する系。プロテアソームは複数のタンパク質が集合して出来る複合体でタンパク質をアミノ酸へ分解する装置である。
- 注7 アポトーシス : 多細胞生物の細胞で増殖制御機構として管理・調節された、能動的な細胞死のことを指し、プログラム細胞死とも呼ばれる。
- 注8 自然免疫応答 : 病原体感染初期の感染防御を担う免疫機構。
- 注9 クライオ電子顕微鏡 : 試料を低温(液体窒素と同程度)のまま観察できる装置を備えた高性能な透過型電子顕微鏡。
- 注10 天然変性領域 : 整った 3 次元構造を持たないタンパク質領域。