

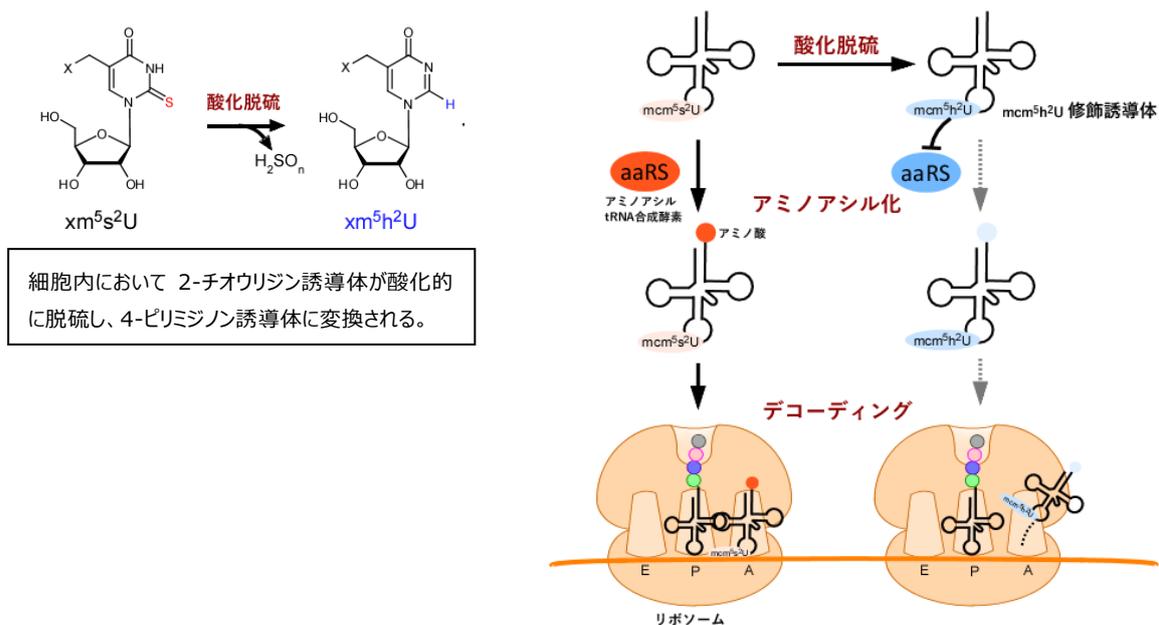
東京大学
科学技術振興機構 (JST)

tRNA の「脱硫型修飾」がタンパク質合成を左右する！

——ヒト細胞で見つかった新しい翻訳制御——

発表のポイント

- ◆ ヒト細胞およびマウス組織の tRNA において、脱硫型修飾 (xm^5h^2U) が内在的に生成されていることを初めて実証しました。
- ◆ 脱硫型修飾は特定の tRNA のアミノアシル化効率とコドン解読能を低下させ、タンパク質合成効率を制御することを明らかにしました。
- ◆ クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析により、脱硫型修飾を有する tRNA がリボソーム上で対応するコドンを認識しにくくなることを明らかにしました。



概要図：脱硫型 tRNA 修飾による翻訳制御機構

概要

東京大学大学院工学系研究科の莫 喻楓 (Yufeng Mo) 大学院生と鈴木 勉 教授の研究グループは、脱硫 (元素記号が S である、硫黄を含む分子が離脱する反応) した tRNA (注 1) 修飾による翻訳制御機構を解明し、その機構が酸化ストレス (注 2) 応答と関連する可能性を示しました。

タンパク質合成においてアダプター分子として機能する tRNA のアンチコドン (注 3) には、さまざまな化学修飾が施されており、翻訳の正確性と効率を適切に制御しています。tRNA には多様な化学修飾が存在しますが、その中でもアンチコドンの 1 塩基目に位置する 5-メチル-2-

チオウリジン誘導体 (xm^5s^2U) は、リボソーム (注 4) 上で mRNA のコドン (注 5) を正確に解読するうえで重要な役割を担っています。

本研究では、ヒト細胞およびマウス組織において、tRNA の xm^5s^2U 修飾が細胞内で酸化的に脱硫され、4-ピリミジノン誘導体 (xm^5h^2U) へと変換されることを明らかにしました。脱硫した tRNA ではアミノアシル化 (注 6) 効率が著しく低下し、さらにリボソーム上での mRNA コドンの解読能も失われることが分かりました。その結果、タンパク質合成効率が低下することが示されました。

加えて、クライオ電子顕微鏡 (注 7) を用いた構造解析により、脱硫型修飾を有する tRNA がリボソーム上で対応するコドンを認識しにくくなることを明らかにしました。

これらの成果は、酸化ストレス条件下において、tRNA 修飾の脱硫を介して翻訳を制御する新たな分子機構の存在を示すものです。

発表内容

〈研究の背景〉

生命活動は、精密な遺伝子発現制御によって維持されています。遺伝子発現は、遺伝情報が転写される段階だけでなく、タンパク質が合成される翻訳段階においても厳密に制御されています。翻訳の過程では、mRNA のコドンがリボソーム上で tRNA のアンチコドンによって読み取られ、この認識の正確さが正しいタンパク質合成を支えています。翻訳の精度は、生命の維持や環境変化への適応に直結する重要な要素です。

tRNA には多様な化学修飾が存在し、これらは翻訳の正確性と効率を制御するうえで重要な役割を担っています。特にアンチコドンの 1 字目 (34 位) に導入される修飾は、コドンとの結合様式に影響を与え、どのコドンをどの程度の効率で読み取るかを決定する鍵となります。このような tRNA 修飾による翻訳制御は、遺伝子発現を柔軟に調節する仕組みであり、細胞の恒常性維持やストレス応答など、さまざまな生命現象に深く関与しています。

2-チオウリジン (s^2U) とその誘導体である 5-メチル-2-チオウリジン誘導体 (xm^5s^2U) は、アンチコドン 34 位に存在する主要な修飾の 1 つであり、ヒト細胞質では tRNA^{Lys} を含む 4 種類の tRNA に導入されています (図 1A)。 s^2U 修飾は、tRNA のアミノアシル化や、プリン塩基を 3 字目にもつコドン (NNR コドン) の正確かつ高効率な解読、さらにリボソームにおける転座反応 (注 8) など、翻訳過程において多面的な機能を果たします。

一方、 s^2U 修飾は化学的に不安定であり、試験管内ではチオカルボニル基が酸化されることで容易に脱硫され、4-ピリミジノン (h^2U) へと変換されることが知られています (図 1B)。細胞内では活性酸素が恒常的に産生されていることから、 s^2U の脱硫は酸化ストレスに伴って内在的に生じる可能性があります。そこで本研究では、RNA 質量分析法 (注 9) を用いて、ヒト培養細胞およびマウス、ブタの組織由来 tRNA を解析しました。その結果、5-メトキシカルボニルメチル-2-チオウリジン (mcm^5s^2U) や 5-タウリノメチル-2-チオウリジン (τm^5s^2U) よりも分子量が 32 Da (読みはダルトン、1Da は ^{12}C 原子の質量の 1/12) 低い未同定ヌクレオシドを検出しました。この分子量差は硫黄原子が酸素原子に置換された場合に相当し、 h^2U 誘導体が細胞内 tRNA に実際に存在することを示唆しています。しかし、これらの脱硫 tRNA 修飾が翻訳制御においてどのような分子機構の役割を担うのかについては、これまで明らかにされていませんでした。

〈研究の内容〉

莫 喻楓 大学院生と宮内 健常 特任研究者らはまず、各種ヒト培養細胞やマウス肝臓などの哺乳動物組織から tRNA を単離精製し、RNA 質量分析法を用いて、tRNA の修飾状態を分析しました。精密質量や衝突活性化分解離（注 10）により、細胞由来の tRNA に h²U 修飾があることが同定されました（図 1C）。修飾率は細胞の種類によって異なっていました。さらに、細胞から tRNA を精製する際に異なる s²U 誘導体を有する大腸菌 tRNA を内部標準として加えることで、h²U 誘導体の形成が実験操作に由来する偽陽性ではないことが証明され、h²U 修飾は細胞内に存在することが示されました。

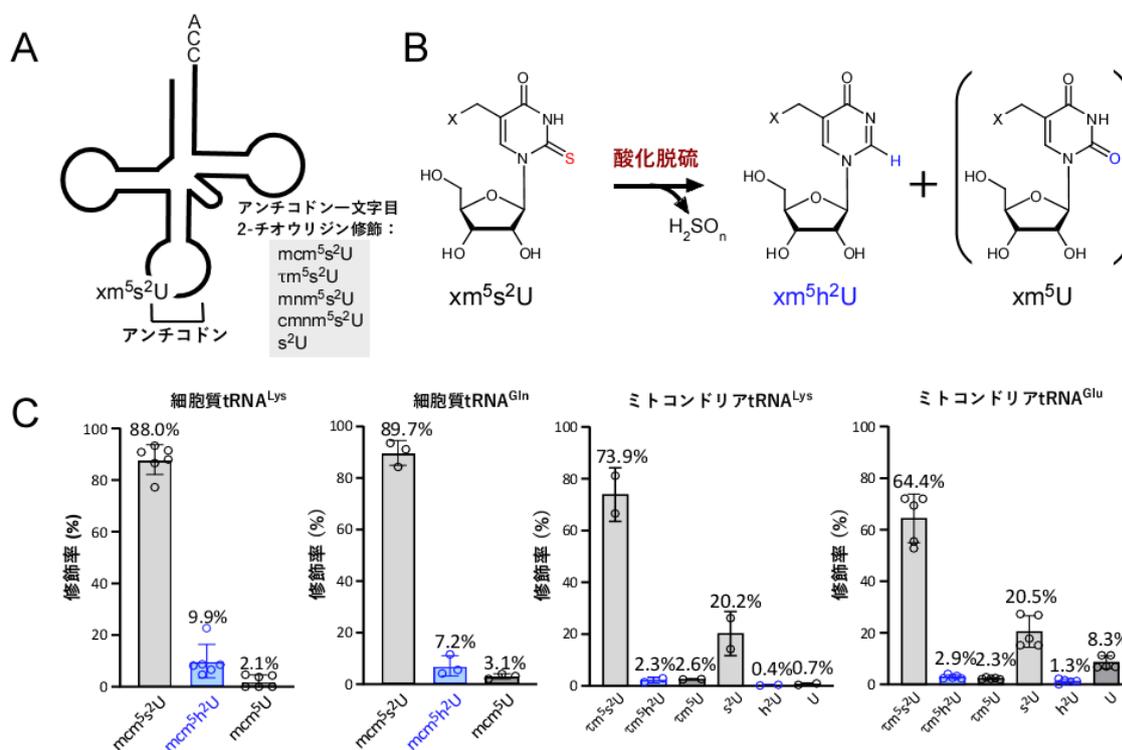


図 1：細胞内における脱硫型 tRNA 修飾の存在

(A) 5-メチル-2-チオウリジン誘導体 (xm⁵s²U) は、tRNA アンチコドン 1 字目に存在する主要な修飾の 1 つである。

(B) tRNA 中の xm⁵s²U の酸化脱硫反応。

(C) マウス組織において、細胞質 tRNA およびミトコンドリア tRNA に脱硫型 tRNA 修飾 (xm⁵h²U) が異なる比率で存在する。

次に、兵庫県立大学の今高 寛晃 教授らが開発したヒト因子由来の再構成型タンパク質合成系を用いて、脱硫型修飾である mcm⁵h²U を有する tRNA の翻訳能を解析しました。その結果、脱硫化により翻訳活性が著しく低下することが明らかとなりました（図 2A）。さらに、細胞抽出液のポリソーム画分（注 11）において mcm⁵h²U 修飾を有する tRNA が検出され、脱硫した tRNA が細胞内で実際に翻訳に参加していることが強く示されました。

続いて、mcm⁵h²U 修飾が翻訳過程のどの段階に影響を及ぼすのかを詳細に解析しました。まず、修飾状態の異なる tRNA を用いてアミノアシル化反応を行ったところ、mcm⁵s²U 修飾を有する tRNA のうち、Gln、Glu、Lys に対応する tRNA では、脱硫化によりアミノアシル化効率が

顕著に低下することが明らかになりました (図 2B)。一方、 $tRNA^{Arg}$ ではアミノアシル化能に変化は認められませんでした。

さらに、リボソーム上でのコドン認識への影響を検討しました。通常の $tRNA^{Lys}$ は AAA および AAG コドンのいずれにも効率よく結合しましたが、脱硫化した $tRNA^{Lys}$ は AAA コドンにはほとんど結合せず、AAG コドンに対しても結合能が大きく低下していました (図 2C)。これらの結果から、 mcm^5s^2U の脱硫は特定の $tRNA$ においてアミノアシル化を阻害するとともに、コドン認識能力を低下させることが示されました。

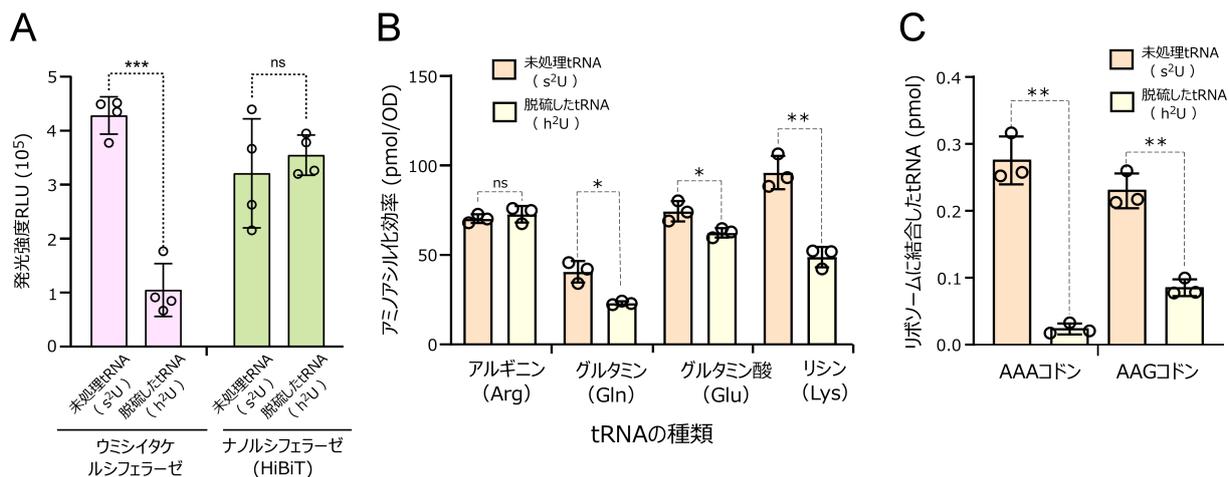


図 2：脱硫型 tRNA 修飾が翻訳過程に及ぼす影響

(A) 脱硫型修飾をもつ tRNA の試験管内翻訳活性。脱硫型 tRNA 修飾により、ウミシイタケルシフェラーゼの翻訳活性が低下した。ナルシフェラーゼは脱硫型 tRNA 修飾の影響を受けないレポータータンパク質 (注 12)。

(B) 脱硫型修飾をもつ tRNA のアミノアシル化効率。

(C) 脱硫型修飾をもつ tRNA のリボソーム上における AAA/AAG コドンへの結合量。

有意差はそれぞれ *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ 。

さらに、脱硫型 tRNA 修飾 (mcm^5h^2U) がコドン認識能を低下させる分子機構を解明するため、石黒 健介 特任助教は、理化学研究所の白水 美香子 チームリーダーらと共同で、リボソームと修飾状態の異なる tRNA との複合体について、クライオ電子顕微鏡による構造解析を行いました (図 3A、B)。その結果、 mcm^5h^2U は AAA コドンとの対合において、水素結合が 1 本のみの不安定な塩基対を形成していることが明らかとなりました。この構造的特徴が、AAA コドンに対する認識能の低下を引き起こす要因であることが示されました (図 3C)。一方で、AAG コドンとの対合においては、 mcm^5h^2U は mcm^5s^2U と同じ対合様式で G を認識しているものの、硫黄がないため安定性が低下していることが示されました (図 3C)。

これらの構造生物学的知見は、脱硫した tRNA がコドン解読能力を低下させる分子基盤を明確に示すものであり、翻訳制御における tRNA 修飾の重要性を強く裏付ける成果です。

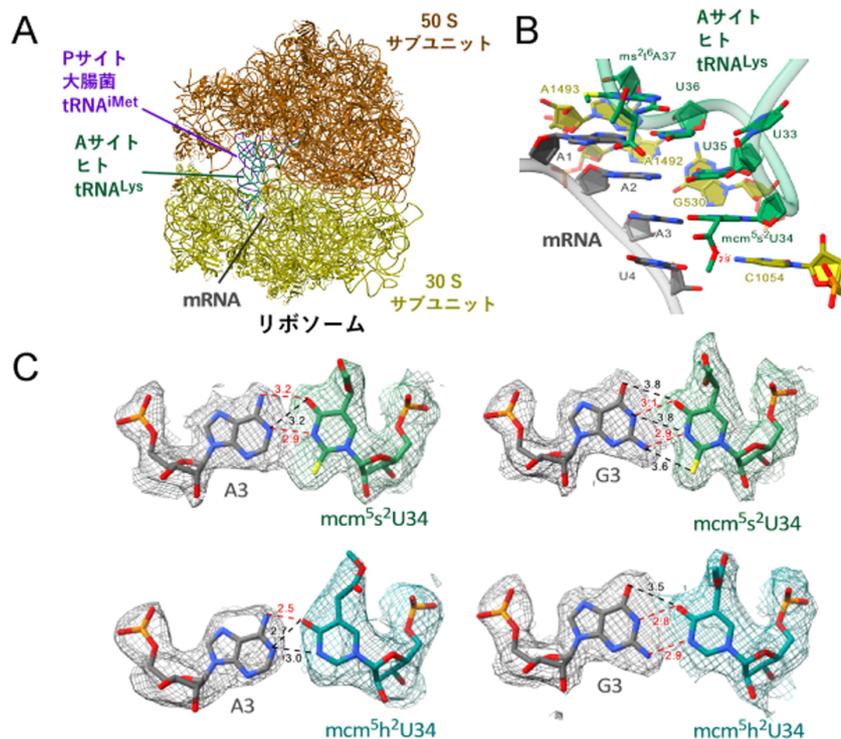


図 3：リボソームの A サイト（注 13）における脱硫型 tRNA 修飾によるコドン認識の構造解析

(A) P サイト（注 14）に大腸菌 tRNA^{iMet}（紫）、A サイトにヒト細胞質 tRNA^{Lys}（緑）が結合した大腸菌 70S リボソームの原子モデル。

(B) ヒト細胞質 tRNA^{Lys}（緑）と AAA コドン（灰色）の塩基対合。16S rRNA の保存残基（黄緑）がコドン-アンチコドン二重鎖の副溝側から接触している。

(C) アンチコドン 1 字目（34 位）の mcm⁵s²U（未処理）および mcm⁵h²U（脱硫型修飾）とコドン 3 字目（A または G）との塩基対合。水素結合を赤点線で、その距離を赤字で示す。mcm⁵h²U は A との対合において、水素結合が 1 本のみで不安定な塩基対を形成し、さらに G との対合においても、硫黄がないため、対合の安定性が低下している。

〈今後の展望〉

今後は、脱硫型 tRNA 修飾の上昇を誘導する生理的条件や環境ストレスを特定し、その制御機構を明らかにすることを目指します。これにより、酸化ストレス応答における翻訳制御の新たな分子基盤を解明するとともに、ヒト疾患との関連についても明らかにしていきたいと考えています。

発表者・研究者等情報

東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻

莫 喻楓 (Yufeng Mo) 博士課程

石黒 健介 特任助教

宮内 健常 特任研究員

鈴木 勉 教授

論文情報

雑誌名 : Nature Communications

題名 : Translational Regulation by Oxidative Desulfuration of tRNA Modifications

著者名 : Yufeng Mo, Kensuke Ishiguro, Kenjyo Miyauchi, Yuriko Sakaguchi, Yosei Hanzawa, Naho Akiyama, Ayaka Murayama, Kodai Machida, Hiroaki Imataka, Akio Yamashita, Takayuki Ohira, Mikako Shirouzu, and *Tutomu Suzuki

* Corresponding author

DOI : 10.1038/s41467-026-70126-7

URL : <https://www.nature.com/articles/s41467-026-70126-7>

研究助成

本研究は、日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費助成事業の基盤研究 (S) 「RNA エピジェネティクスと高次生命現象」 (代表 : 鈴木勉、JP26220205) および科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 ERATO「鈴木 RNA 修飾生命機能プロジェクト」 (研究総括: 鈴木勉、JPMJER2002) などの支援を受けて実施されました。

用語解説

(注 1) tRNA

Transfer RNA (転移 RNA)。タンパク質合成において、コドン (特定の 3 塩基配列) とアミノ酸を 1 対 1 で対応させるアダプター分子として機能する。70~90 塩基長の短い一本鎖 RNA で、特徴的なクローバー葉状の二次構造をとり、さらに折りたたまれて L 字型の立体構造を形成する。tRNA は 3' 末端に対応する特定のアミノ酸を結合し、20 種類のアミノ酸それぞれに対して複数種類の tRNA が存在する。tRNA はコドンに対応する 3 塩基からなるアンチコドンをもち、リボソーム上で mRNA (messenger RNA、伝令 RNA) のコドンと対合し、そのコドンに対応するアミノ酸を伸長中のタンパク質へと導入する。

(注 2) 酸化ストレス

細胞内で産生される活性酸素が、それを除去する抗酸化機構 (抗酸化物質や抗酸化酵素) の能力を超えて過剰となり、細胞や組織に酸化的損傷を与える状態を指す。

(注 3) アンチコドン

tRNA の 34~36 位 (1~3 字目) の 3 つの塩基から構成される配列。リボソーム上で対応するコドンと塩基対を形成することで遺伝暗号を解読し、対応するアミノ酸の導入を可能にする。

(注 4) リボソーム

タンパク質合成の場となる巨大な RNA とタンパク質の複合体。複数種のリボソーム RNA (rRNA) と多数のタンパク質から構成され、大小 2 つのサブユニットからなる。大サブユニットはペプチド転移反応を触媒し、小サブユニットは mRNA と tRNA 間のコドン-アンチコドン対合の正確性を監視する。

(注 5) コドン

遺伝暗号の基本単位。RNA の 4 種類の塩基（アデニン、グアニン、ウラシル、シトシン）が 3 つずつ並んだ配列で、64 通りが存在する。標準的な遺伝暗号では、このうち 61 種が 20 種類のアミノ酸を指定し、残り 3 種はタンパク質合成の終結を指示する終止コドンである。

(注 6) アミノアシル化

tRNA の 3'末端にアミノ酸を結合させる反応。各アミノ酸に対して特異的なアミノアシル tRNA 合成酵素が存在し、対応する tRNA に正しいアミノ酸を結合させることで、コドンとアミノ酸の対応関係が厳密に保証されている。

(注 7) クライオ電子顕微鏡

生体分子試料を極低温（約-200°C）で急速凍結し、電子線を照射して構造を観察する電子顕微鏡法。水溶液中の状態をほぼ保持したまま解析できるため、生体内に近い構造情報を得ることが可能である。

(注 8) 転座反応

翻訳過程において、ペプチド結合形成後にリボソームが mRNA 上を 1 コドン分移動する過程。これにより、A サイトおよび P サイトに結合していた tRNA が順次 P サイトおよび E サイトへと移動する。英語では translocation という。

(注 9) RNA 質量分析法

質量分析計を用いて RNA 分子を解析する手法。RNA をヌクレオシド単位または短い断片に酵素分解し、液体クロマトグラフィーで分離した後、質量分析を行う。得られた質量電荷比 (m/z) から精密分子量を決定し、修飾構造の同定や修飾率の計測を行うことができる。

(注 10) 衝突活性化分解

質量分析における断片化手法の 1 つ。イオン化した分子を希ガスと衝突させることで内部エネルギーを与え、分子を断片化させる。生成したフラグメントイオンのパターンを解析することで、分子の構造や修飾位置を詳細に決定できる。RNA の場合、配列と修飾部位の解析が可能。

(注 11) ポリソーム画分

1 本の mRNA に複数のリボソームが同時に結合して翻訳を行っている状態をポリソーム (polysome) という。細胞抽出液を密度勾配遠心法などで分画すると、翻訳中の mRNA-リボソーム複合体がポリソーム画分として分離される。一般的にこの画分に存在する tRNA は、実際に翻訳に参加していることを示す。

(注 12) レポータータンパク質

化学発光や蛍光などで検出可能な酵素（例：ルシフェラーゼ）を発現させることにより、遺伝子発現やタンパク質合成活性を可視化・定量するために用いられるタンパク質のこと。

(注 13) A サイト

アミノアシル tRNA が mRNA のコドンを解読するために結合するリボソーム上の部位。

(注 14) P サイト
ペプチジル tRNA が結合するリボソーム上の部位。

問合せ先

〈研究内容について〉

東京大学大学院工学系研究科
教授 鈴木 勉 (すずき つとむ)

〈機関窓口〉

東京大学大学院工学系研究科 広報室

科学技術振興機構 広報課

〈JST 事業に関する問合せ〉

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部 ICT/ライフィノベーショングループ
今林 文枝 (いまばやし ふみえ)