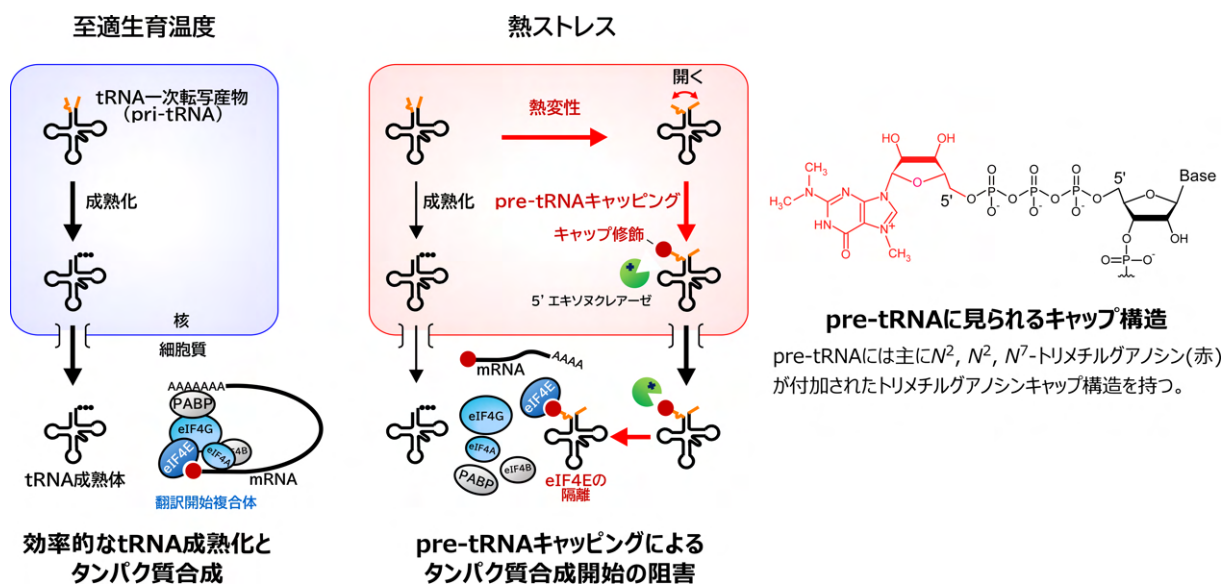


東京大学
科学技術振興機構（JST）

tRNA 前駆体が生育温度を感知する ——熱ストレスで増加するキャップ化 tRNA 前駆体が タンパク質合成を抑制する——

発表のポイント

- ◆ 出芽酵母において、トランスファーRNA（tRNA）の前駆体（pre-tRNA）が熱ストレスに応答して積極的にキャップ修飾される現象（pre-tRNA キャッピング）を発見しました。
- ◆ キャップ化 pre-tRNA が翻訳開始因子を捕捉して mRNA の翻訳を抑制することで、生育環境の変化を感知しタンパク質合成を制御する新たな遺伝子発現制御機構を明らかにしました。
- ◆ pre-tRNA キャッピングによる翻訳制御機構は、広く真核生物に共通する新たなストレス応答機構である可能性があり、細胞が環境変化に適応する仕組みの理解がさらに深まることが期待されます。



概念図：熱ストレス時における pre-tRNA キャッピングによるタンパク質合成の調節機構

概要

東京大学大学院工学系研究科の大平 高之 助教、鈴木 勉 教授らの研究グループは、出芽酵母（注1）において、トランスファーRNA（tRNA）（注2）の前駆体（pre-tRNA）（注3）が熱ストレスに応答して積極的にキャップ修飾（注4）されることを発見しました。また、その形成機構を解明するとともに、キャップ修飾が pre-tRNA の安定化に寄与することを明らかにしました。さらに、熱ストレス下で蓄積したキャップ化 pre-tRNA がタンパク質合成を抑制することを見出しました。加えて、キャップ化 pre-tRNA を網羅的に解析することで、全 tRNA 遺伝子の転写単位を特定し、高精度な転写地図（注5）を作成しました。

タンパク質合成において、tRNA はリボソーム（注 6）上でメッセンジャーRNA（mRNA）（注 7）のコードン（注 8）を読み取り、対応するアミノ酸を運ぶアダプター分子として機能します。研究グループはこれまでに、出芽酵母において pre-tRNA の一部にキャップ修飾が付加されることを発見し、この現象を「pre-tRNA キャッピング（注 9）」と名付けました。しかし、pre-tRNA キャッピングがどのような条件で起こり、細胞内でどのような役割を果たしているのかは不明でした。そこで本研究では、pre-tRNA キャッピングが誘導される生育条件を明らかにするとともに、その生物学的意義の解明に取り組みました。

出芽酵母の至適生育温度は 30°C ですが、37°C で培養するとキャップ化 pre-tRNA が顕著に増加することがわかりました。そこで研究グループは、キャップ化された低分子 RNA を網羅的に解析する新手法 CaSh-seq（Capped Short RNA-sequencing）法（注 10）を開発し、キャップ化 pre-tRNA の全体像を調べました。この解析により、各 tRNA 遺伝子の転写開始点から転写終結領域までを含む転写単位が正確に決まり、全 tRNA 遺伝子の転写地図が作成されました。その結果、ほぼ全ての tRNA 種がキャップ化されることが明らかになりました。さらに、熱ストレス下では、分解されやすい tRNA 種ほどキャップ化される傾向が認められました。この結果は、キャップ修飾がこれらの tRNA を優先的に分解から保護する役割を担うことを示しています。さらなる解析の結果、pre-tRNA キャッピングの効率は pre-tRNA の 5'末端構造の柔軟性に依存することが明らかになりました。このことから、高温環境下では pre-tRNA の 5'末端構造が緩み、キャップ化酵素がアクセスしやすくなることで、pre-tRNA キャッピングが促進されと考えられます。次に、細胞内でキャップ化 pre-tRNA と相互作用するタンパク質を解析したところ、翻訳開始因子 eIF4E（注 11）と結合することを突き止めました。さらに、キャップ化 pre-tRNA が eIF4E を捕捉することで、mRNA の翻訳開始を阻害し、タンパク質合成を抑制することを明らかにしました。

これらの結果は、pre-tRNA が単なる tRNA の前駆体ではなく、熱ストレスに応答してキャップ化されることで翻訳開始因子を捕捉し、タンパク質合成を抑制する機能性 RNA として働くことを示しています。すなわち pre-tRNA が細胞環境の変化を感知するセンサー分子として機能し、遺伝子発現を直接制御する新たな翻訳調節因子であることを明らかにしたものです。

発表内容

〈研究の背景〉

全ての生物は、ゲノム DNA に記録された遺伝情報を mRNA へ転写し、それをタンパク質へ翻訳することで生命活動を維持しています。細胞が環境の変化に適応して生存するためには、温度や栄養状態などに応じて遺伝子発現を適切に制御する必要があります。その制御機構の 1 つとして、RNA の転写後修飾すなわち「RNA 修飾（注 12）」が重要な役割を担っています。これまでに 150 種類以上の RNA 修飾が発見されており、その多くは生物種ごとに独自に進化したものであることから、RNA 修飾は環境変化への適応を支える仕組みの 1 つとして発達してきたと考えられています。

tRNA は、mRNA 上の遺伝暗号を対応するアミノ酸へと変換するアダプター分子として、タンパク質合成に必須の役割を担っています。しかし近年、tRNA は単なる翻訳装置の構成因子ではなく、遺伝子発現を積極的に制御する機能性 RNA であることが明らかになりつつあります。例えば、tRNA の発現量や修飾状態の変化は mRNA の安定性や翻訳効率に影響を及ぼし、さらに翻訳と共役した新生ポリペプチド鎖の折り畳みやプロテオスタシス（注 13）の維持にも深く関与することが示されています。また、tRNA から産生される断片 RNA（tRNA-derived fragments; tRFs）は、翻訳制御やストレス応答など多様な生命現象を調節する機能性 RNA とし

て注目されています。このように、tRNA は遺伝暗号を解読するアダプター分子としての古典的役割に加え、遺伝子発現ネットワークや細胞恒常性を制御する新たな調節因子として認識されるようになっていきます。

真核生物において、tRNA は RNA ポリメラーゼ III (注 14) によって pre-tRNA として転写された後、余剰配列の除去や多様な RNA 修飾の導入などのプロセッシングを経て、成熟 tRNA となります (図 1 左)。研究グループはこれまでの研究で、一部の pre-tRNA にキャップ修飾が付加されることを発見しました (Ohira and Suzuki, *Nature Chemical Biology*, 2016)。さらに、このキャップ修飾が pre-tRNA を分解から保護し、その安定性を維持することを明らかにし、この現象を「pre-tRNA キャッピング」と名付けました。当時、キャップ修飾は RNA ポリメラーゼ II (注 15) によって転写される mRNA などに特有の修飾であり、RNA ポリメラーゼ III の転写産物である tRNA には存在しないと考えられていました。そのため、この発見は RNA キャップ修飾に関する従来の概念を覆し、tRNA 生合成に新たな制御機構が存在することを示す画期的な成果でした。しかしながら、pre-tRNA キャッピングがどの tRNA 種にどの程度導入されているのか、どのような環境変化や生理条件に応答して誘導されるのか、さらにはキャップ修飾を介して遺伝子発現や翻訳制御にどのような影響を及ぼすのかなど、その全体像と生理学的意義については明らかになっていませんでした。

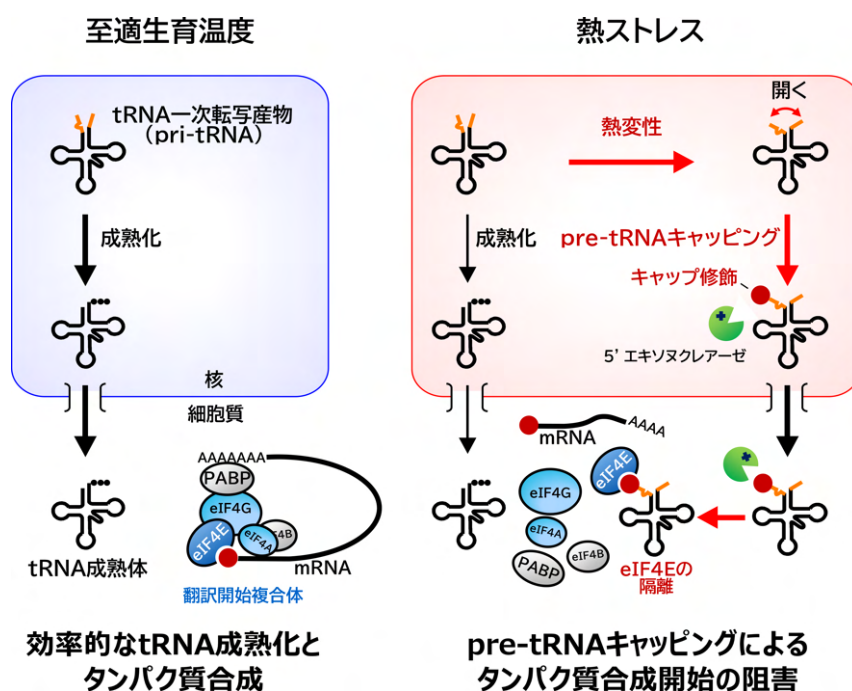


図 1 : 熱ストレスに応答した pre-tRNA キャッピングによる翻訳開始制御機構

通常の生育温度では、tRNA 一次転写産物 (pri-tRNA) は核内で効率よくプロセスされ、成熟 tRNA として細胞質へ輸送される。細胞質では成熟 tRNA がタンパク質合成に利用され、eIF4E、eIF4G、eIF4A などからなる翻訳開始複合体が mRNA の翻訳開始を促進する (左)。一方、熱ストレス下では、一部の pri-tRNA が熱変性によって構造変化を起こし、通常の成熟化経路から外れて新たにキャップ修飾を受ける (pre-tRNA キャッピング)。キャップ化された pre-tRNA は 5' エキソヌクレアーゼによる分解を回避しながら細胞質へ輸送され、mRNA キャップ結合タンパク質 eIF4E を捕捉する。その結果、eIF4E が翻訳開始複合体から隔離され、mRNA へのリクルートが阻害されることで、キャップ依存的翻訳開始が抑制される (右)。本研究は、pre-tRNA が熱ストレスを感知するセンサーとして機能し、キャップ化 pre-tRNA を介して細胞全体のタンパク質合成を制御する新しい翻訳調節機構を明らかにした。

そこで本研究では、出芽酵母をモデル生物として、pre-tRNA キャッピングが誘導される生育環境や細胞内条件を探索するとともに、次世代シーケンス (NGS) (注 16) を用いた網羅的解析により、キャップ化 pre-tRNA の全体像を明らかにしました。さらに、キャップ化 pre-tRNA がタンパク質合成に及ぼす影響を解析することで、pre-tRNA キャッピングが関与する新たな遺伝子発現制御機構とその生理学的意義の解明を目指しました。

〈研究の内容〉

東京大学大学院工学系研究科の菊池 一徳 大学院生 (研究当時) と大平 高之 助教らは、出芽酵母を 30°C (至適生育温度) および 37°C (熱ストレス条件) で培養し、細胞から調製した RNA に対して抗キャップ修飾抗体を用いた免疫沈降 (注 17) とノーザンブロット解析 (注 18) を行いました。その結果、熱ストレスを付与すると、時間の経過に伴ってキャップ化 pre-tRNA が増加することを見出しました (図 2A)。興味深いことに、pre-tRNA が分解されて生じる断片 RNA (5' pre-tRF) にもキャップ修飾が保持されていることが明らかになりました。この 5' pre-tRF の生成にはリボヌクレアーゼ Rny1p が主に関与することも判明しました (図 2B)。熱ストレスに応答した pre-tRNA キャッピングの変動パターンや 5' pre-tRF の生成量は、tRNA 種ごとに大きく異なっていました。この結果は、pre-tRNA キャッピングが全ての pre-tRNA に一律に起こる現象ではなく、特定の tRNA 種や遺伝子ごとに選択的かつ動的に制御されていることを示しています。

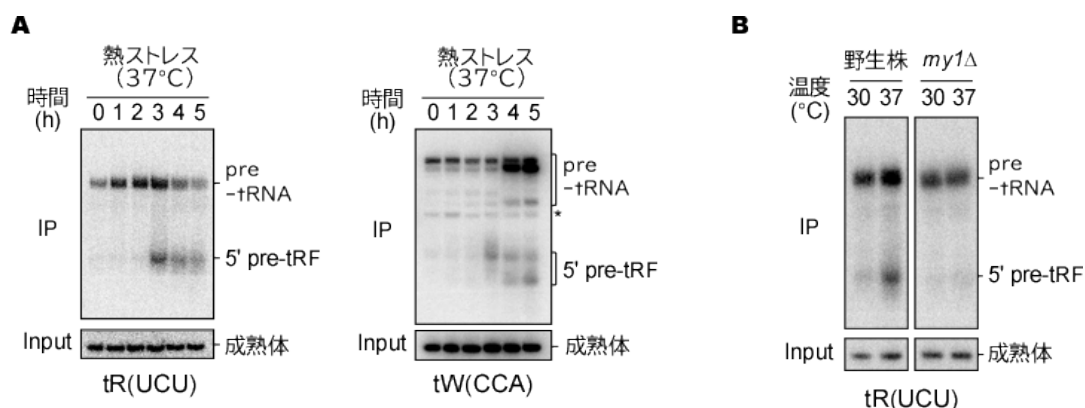


図 2 : 熱ストレスによって誘導される pre-tRNA キャッピングと 5' pre-tRF の生成

(A) 出芽酵母を 37°C の熱ストレス条件に曝露し、経時的に回収した全 RNA (Input) および抗キャップ抗体によって濃縮したキャップ化 RNA 画分 (IP) をノーザンブロットで解析した。Input 画分では成熟 tRNA 量に大きな変化は認められなかった一方、IP 画分では tRNA^{Arg}(UCU) [tR(UCU)] および tRNA^{Trp}(CCA) [tW(CCA)] 由来のキャップ化 pre-tRNA が熱ストレスに応答して増加した。また、熱ストレス開始後 2 時間以降には、5' 側断片である 5' pre-tRF が検出され、pre-tRNA のキャッピングに続いて切断が起こることが示された。

(B) 野生株および *rny1Δ* 株を 30°C または 37°C で培養し、全 RNA (Input) およびキャップ化 RNA 画分 (IP) を解析した。野生株では 37°C でキャップ化 pre-tRNA と 5' pre-tRF の蓄積が観察されたのに対し、*rny1Δ* 株では 5' pre-tRF の生成が著しく減少した。一方、キャップ化 pre-tRNA は依然として検出されたことから、Rny1 がキャップ化 pre-tRNA の切断に関与し、5' pre-tRF の生成を担うことが示唆された。

そこで、pre-tRNA キャッピングの全容を解明するため、東京大学大学院工学系研究科の石神 有真 特任研究員 (研究当時、現コールドスプリングハーバー研究所研究員) とともに、抗キャップ修飾抗体による免疫沈降と NGS を組み合わせた CaSh-seq (Capped Short RNA-sequencing) 法を開発し、キャップ化 pre-tRNA および 5' pre-tRF の網羅的解析を行いました (図 3A, B)。また、

ポジティブコントロールとして、ドキシサイクリン (Dox) (注 19) 依存的に pre-tRNA を蓄積する酵母株 (*tetO₇-POP4*) を用い、Dox 存在下で培養した細胞についても CaSh-seq 解析を実施しました。その結果、ほぼ全ての pre-tRNA 種でキャップ修飾が検出され、pre-tRNA キャッピングが広範な tRNA 種に共通して起こる現象であることが明らかになりました。さらに、本手法によって tRNA 遺伝子の転写開始点および転写終結領域を高精度に特定することが可能となり、多くの tRNA 遺伝子が複数の転写開始点を利用していることも明らかになりました。この成果により、pre-tRNA キャッピングの全容が初めて解明されるとともに、これまで不明であった tRNA 遺伝子の転写単位の全体像も明らかになりました。

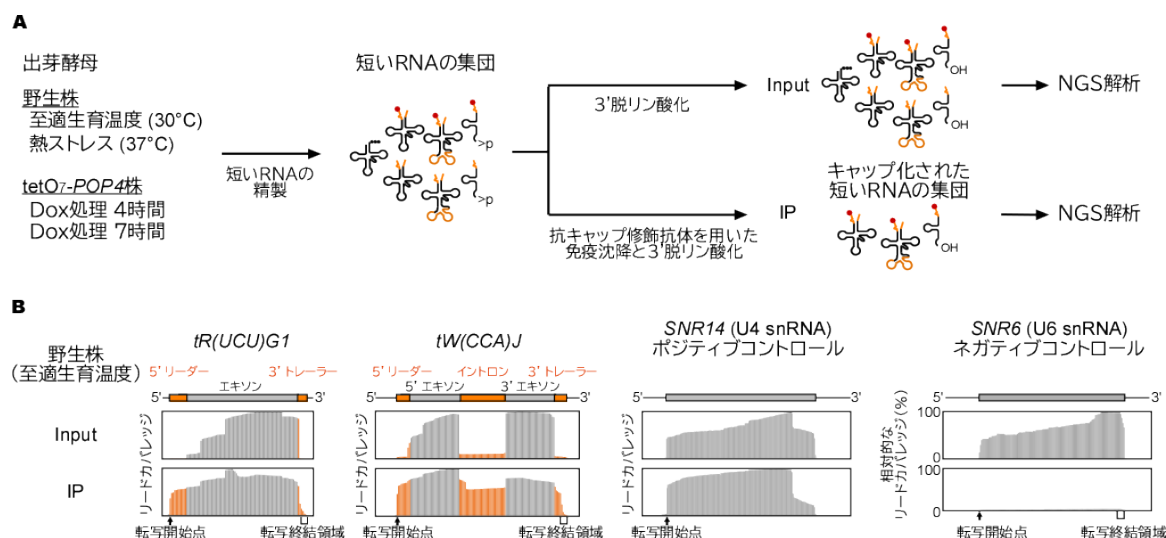


図 3 : CaSh-seq による pre-tRNA キャッピングの包括的解析と転写地図の作成

(A) CaSh-seq (Capped Short RNA sequencing) の実験手順。出芽酵母野生株を至適生育温度 (30°C) または熱ストレス条件 (37°C) で培養し、さらに *tetO₇-POP4* 株では Dox 処理によって tRNA 前駆体の成熟化を阻害した。細胞から回収した短鎖 RNA 画分を精製後、3'末端を脱リン酸化したライブラリー (Input) と、抗キャップ抗体を用いてキャップ化 RNA を免疫沈降した後に 3'末端を脱リン酸化したライブラリー (IP) を調製し、次世代シーケンサー (NGS) で解析した。

(B) CaSh-seq により得られたリードのゲノム上での分布例。*tR(UCU)G1* およびイントロン含有 *tW(CCA)J* では、Input ライブラリーでは主に成熟 tRNA 由来のリードが検出されたのに対し、IP ライブラリーでは転写開始点付近に由来するキャップ化 pre-tRNA リードが選択的に濃縮された。これらの結果から、各 tRNA 遺伝子の転写開始点および転写終結領域を高精度に決定することが可能となった。ポジティブコントロールである SNR14(U4 snRNA)では IP 画分への濃縮が観察された一方、メチルグアノシンキャップ構造を持たない SNR6 (U6 snRNA)では濃縮は認められなかった。これにより、CaSh-seq がキャップ化 RNA を特異的に検出できることが確認された。

次に、pre-tRNA キャッピングをより詳細に解析するため、キャップ化率を定量的に評価する指標として「キャップスコア」を定義し、pre-tRNA のキャップ化状態を網羅的に解析しました。その結果、キャップスコアは tRNA 遺伝子ごとに大きく異なることが明らかになりました (図 4A)。さらに、30°C と 37°C の条件を比較したところ、熱ストレス下では pre-tRNA のキャップスコアが全体的に上昇していました (図 4A)。一方、*tetO₇-POP4* 株では、Dox 存在下での培養時間の経過に伴いキャップスコアが全体的に増加することが確認されました (図 4B)。興味深いことに、熱ストレス時に定常状態量が大きく減少する pre-tRNA ほど高いキャップスコアを示す傾向が認められました (図 4C)。この結果は、キャップ修飾が分解されやすい pre-tRNA を優先的に保護し、その安定性を維持していることを示唆しています (図 1 右)。さらに研究グループは、tRNA 種ごとにキャップスコアが異なる要因を明らかにするため、各 pre-tRNA の 5'末端

および 3'末端における塩基対形成確率（注 20）とキャップスコアとの関係を解析しました。その結果、5'末端がフレキシブルな pre-tRNA ほどキャップ化されやすいことが明らかになりました。このことから、pre-tRNA の 5'末端構造が生育温度の変化を感知し、キャップ修飾の導入を制御する「温度センサー」として機能している可能性が示されました（図 1 右）。

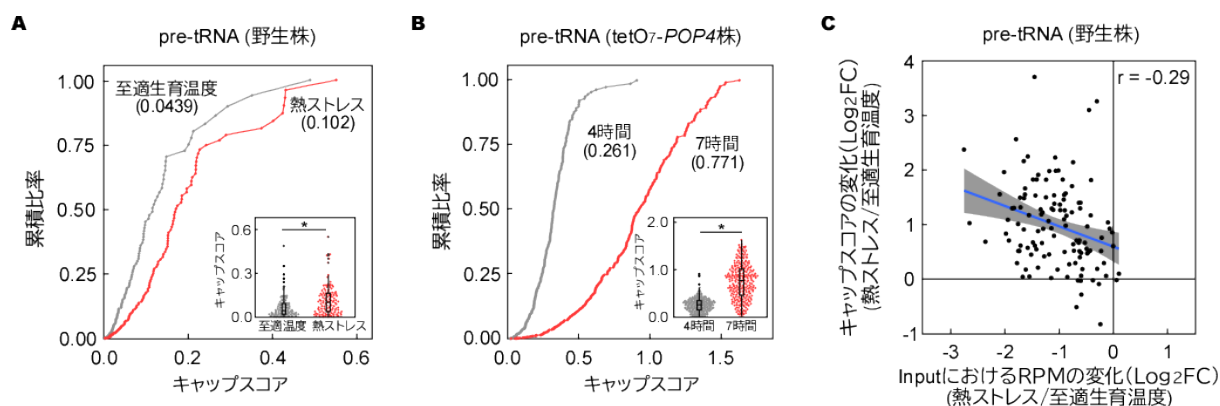


図 4 : CaSh-seq による pre-tRNA キャッピングの定量解析

(A) 野生株を至適生育温度 (30°C) および熱ストレス条件 (37°C) で培養し、CaSh-seq によって各 pre-tRNA のキャップスコアを算出した。累積分布解析の結果、熱ストレス条件では至適生育温度と比較してキャップスコアが全体的に上昇し、pre-tRNA キャッピングが広範に誘導されることが示された。図中の括弧内の値は各条件におけるキャップスコアの中央値を示す。挿入図は個々の pre-tRNA のキャップスコア分布を示し、熱ストレス条件で有意な増加が認められた (*P < 0.05)。

(B) tetO7-POP4 株において Dox 処理により RNase P 活性を低下させ、pre-tRNA の成熟化を阻害した条件で同様に解析した。Dox 処理 7 時間後には 4 時間後と比較してキャップスコアが顕著に上昇し、未成熟 pre-tRNA の蓄積に伴ってキャッピングが促進されることが示された。括弧内の値はキャップスコアの中央値を示す。

(C) 野生株における熱ストレス応答時の pre-tRNA 発現変動とキャッピング変動の関係を示す散点図。横軸は Input ライブラリーにおける pre-tRNA リード数の変化量 [$\log_2(\text{熱ストレス}/\text{至適生育温度})$]、縦軸はキャップスコアの変化量 [$\log_2(\text{熱ストレス}/\text{至適生育温度})$] を示す。両者の間には弱い負の相関 ($r = -0.29$) が認められ、熱ストレスによるキャッピング誘導は pre-tRNA の発現量変化のみでは説明できないことが示唆された。RPM (Reads Per Million) は、シーケンスで得られた各 RNA のリード数をライブラリー全体の総リード数で正規化した値であり、異なるサンプル間で RNA 量を比較するための指標である。本解析では Input ライブラリーにおける pre-tRNA 由来リード数を RPM として算出し、pre-tRNA 発現量の比較に用いた。

さらに東京大学工学部化学生命工学科の中塚 太一 学部学生（研究当時）とともに、キャップ化 pre-tRNA の機能を明らかにするため、翻訳開始複合体のキャップ結合タンパク質 eIF4E に着目しました。eIF4E を免疫沈降し、共沈した RNA をノーザンブロットングで解析したところ、キャップ化 pre-tRNA が eIF4E と相互作用していることが明らかになりました（図 5A）。次に、この相互作用がタンパク質合成に与える影響を調べるため、キャップ依存的または IRES（注 21）依存的に翻訳されるナノルシフェラーゼ (Nluc)（注 22）mRNA をレポーターとしたウサギ網状赤血球溶解物由来の試験管内翻訳系（注 23）を用いて解析しました。その結果、キャップ化 pre-tRNA を添加した場合にのみ、キャップ依存的な Nluc の発光シグナルが顕著に低下し、脱キャップ処理した pre-tRNA ではその効果が認められませんでした（図 5B）。この結果は、キャップ化 pre-tRNA がキャップ依存的なタンパク質合成を特異的に阻害することを示しています。さらに研究グループは、この現象が細胞内でも起こるかを検証しました。キャップ依存的に翻訳されるウミシイタケルシフェラーゼ (Rluc) と、IRES 依存的に翻訳されるホタルルシフェラーゼ (Fluc) を用いてレポーター解析したところ、熱ストレス条件下では Fluc に対する Rluc の活性比が低下し、キャップ依存的な翻訳が選択的に抑制されることが確認されま

した (図 5C)。さらに、熱ストレスによって誘導される他の適応応答の影響を排除するため、*tetO7-POP4* 株を用いて pre-tRNA を蓄積させた条件で同様の解析を行いました。その結果、熱ストレスを与えなくてもキャップ依存的な翻訳が顕著に抑制されることが明らかになりました (図 5C)。

以上の結果から、キャップ化 pre-tRNA は eIF4E を捕捉することで mRNA への結合を競合的に阻害し、翻訳開始を抑制していると考えられます。すなわち、pre-tRNA は単なる成熟 tRNA の前駆体ではなく、熱ストレスを感知してタンパク質合成の開始を制御する新たな機能性 RNA として働くことが示されました。今回の発見は、pre-tRNA が“生育温度応答性の翻訳調節因子”として機能する可能性を示すものであり、tRNA 前駆体に未知の生理機能が存在することを明らかにした重要な成果です。

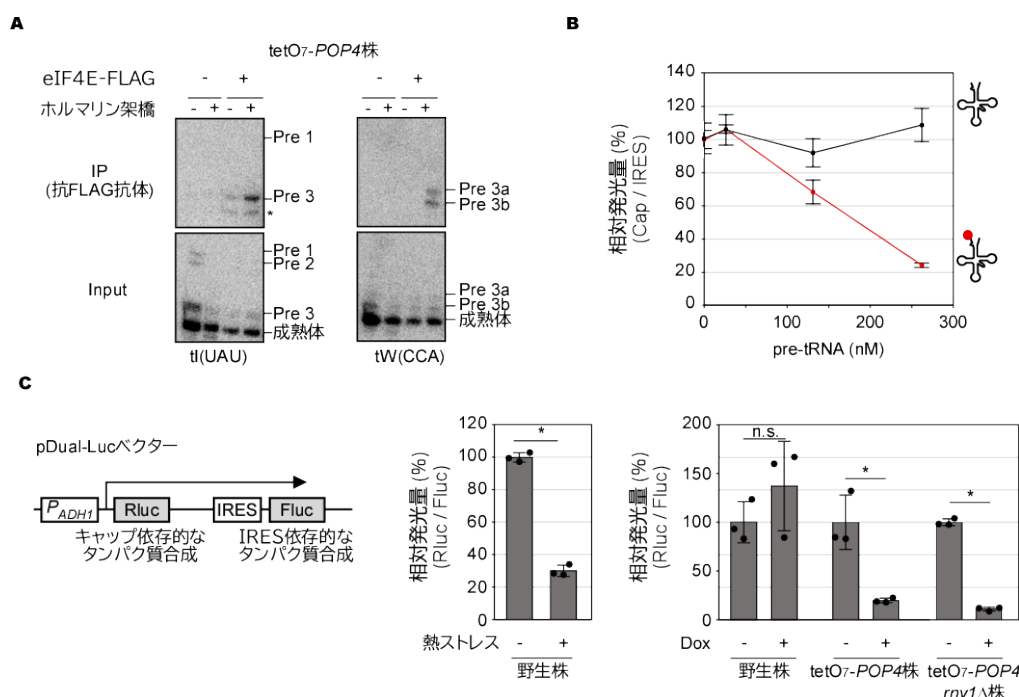


図 5：キャップ化 pre-tRNA による eIF4E の隔離を介したキャップ依存的タンパク質合成の調節

(A) eIF4E-FLAG を発現する *tetO7-POP4* 株の細胞抽出物 (Input) および抗 FLAG 抗体の精製画分 (IP) における tRNA^{Leu} (UAU) [tl(UAU)] および tRNA^{Trp} (CCA) [tw(CCA)] についてノーザンブロッティング解析した結果。

(B) ウサギ網状赤血球溶解物を用いた試験管内翻訳系にキャップ化 pre-tRNA (赤) あるいは脱キャップ処理した pre-tRNA (黒) を添加した時の Nluc の相対発光量 (%、Cap/IRES 比)。pre-tRNA 非添加時の値を 100% とした。エラーバーは測定を 3 回行った時の標準偏差を示す。

(C) Fluc と Rluc を用いた細胞内におけるタンパク質合成の解析。解析に使用したルシフェラーゼ発現ベクターの模式図 (左)。熱ストレスの有無 (中央)、または Dox 添加 (+)・非添加 (-) で培養した野生株、*tetO7-POP4* 株、および *tetO7-POP4 rny1Δ* 株 (右) における相対発光量 (%、Rluc/Fluc 比)。熱ストレスまたは Dox 非添加時の値を 100% とした。エラーバーは測定を 3 回行った時の標準偏差を示す。* $p < 0.05$ 。

〈今後の展望〉

本研究は、pre-tRNA が単なる成熟 tRNA の前駆体ではなく、熱ストレスを感知してタンパク質合成を制御する新たな機能性 RNA として働くことを示したものです。これにより、これまで主に RNA の安定性維持に関与すると考えられていたキャップ修飾が、翻訳制御にも直接関与することが明らかとなり、その生理学的意義に新たな視点をもたらしました。

キャップ修飾は真核生物に広く保存された分子機構であることから、本研究で見出された pre-tRNA キャッピングによる翻訳制御機構は、酵母にとどまらず広く真核生物に共通する新たなストレス応答機構である可能性があります。今後、ヒトを含む高等真核生物において同様の機構が存在するかを解明することで、細胞が環境変化に適応する仕組みの理解がさらに深まることが期待されます。

さらに、本研究で開発した CaSh-seq 法は、pre-tRNA キャッピングの網羅的解析に加え、tRNA 遺伝子の転写開始・終結機構や成熟過程における RNA 代謝の解析にも応用可能です。本手法は、tRNA 生合成とその制御機構の理解を大きく前進させる基盤技術として、今後の tRNA 研究の発展に貢献することが期待されます。

発表者・研究者等情報

東京大学大学院工学系研究科

鈴木 勉 教授

大平 高之 助教

菊池 一徳 博士課程：研究当時

論文情報

雑誌名：Nature Communications

題 名：Heat stress promotes pre-tRNA capping to modulate cap-dependent translation in *Saccharomyces cerevisiae*

著者名：Ittoku Kikuchi, Takayuki Ohira*, Taichi Nakatsuka, Yuma Ishigami, and Tsutomu Suzuki*

*責任著者

DOI：10.1038/s41467-026-76325-6

URL：https://doi.org/10.1038/s41467-026-76325-6

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)、基盤研究 (S)「RNA 修飾の変動と生命現象」(代表：鈴木勉、JP18H05272)、基盤研究 (S)「環境変化に誘導される RNA 修飾の生理機能と多様性獲得機構」(代表：鈴木勉、JP26K21763)、新学術領域研究 研究領域提案型「ncRNA のケミカルタクソノミ」(代表：鈴木勉、JP26113003)、若手研究 (A)「Pre-tRNA capping が関与する遺伝子発現制御機構の探究」(代表：大平高之、JP17H04997)、若手研究 (B)「tRNA の新規成熟経路の解析と 5'キャップによる成熟制御機構の解析」(代表：大平高之、JP26840005)、特別研究員奨励費「pre-tRNA capping が担う新規翻訳制御機構の解明」(代表：菊池一徳、JP21J10419)、公益財団法人住友財団の基礎科学研究助成「Pre-tRNA capping の関与する新規遺伝子発現制御機構の探索」(代表：大平高之)、公益財団法人千里ライフサイエンス振興財団の岸本基金研究助成「Pre-tRNA capping の関与する新規遺伝子発現制御機構の探求」(代表：大平高之)、公益財団法人中島記念国際交流財団の日本人若手研究者研究助成金「RNA の 5'末端構造に基づいた RNA 発現プロファイリング」(代表：大平高之)、および科学技術振興機構 (JST) の創発的研究支援事業「tRNA 工学による細胞機能の発現と制御」(代表：大平高之、JPMJFR230S)、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）出芽酵母

ヒトを含む真核生物に共通する生命現象のモデル生物として広く利用されている。遺伝学的解析が容易であり、多くの研究グループによって tRNA に関する研究が長年進められているため知見が豊富である。

（注 2）トランスファーRNA (tRNA)

mRNA 上の遺伝暗号（コドン）を読み取り、対応するアミノ酸をリボソームへ運ぶ RNA。タンパク質合成におけるアダプター分子として機能する。

（注 3）tRNA 前駆体 (pre-tRNA)

未成熟な tRNA。余剰配列の除去や多種多様な RNA 修飾など複数の成熟化過程を経て、タンパク質合成に利用される成熟した tRNA となる。

（注 4）キャップ修飾

RNA の 5'末端に付加される化学修飾。真核生物の mRNA では N^7 -メチルグアノシン (m^7G) が付加され、mRNA の安定化や核外輸送、翻訳開始の促進など重要な役割を担う。pre-tRNA は主に N^2 , N^2 , N^7 -トリメチルグアノシンが付加されたトリメチルグアノシンキャップ構造を持つ。キャップ化酵素およびメチル化酵素がこの修飾の形成に関与する。

（注 5）転写地図

各 tRNA 遺伝子について、RNA が作られ始める位置（転写開始点）と終わる位置（転写終結領域）を高精度に決定し、転写単位を網羅的に整理したデータベース。

（注 6）リボソーム

mRNA 上の遺伝情報に基づき tRNA によって運び込まれたアミノ酸をつなげるタンパク質合成の場であり、多数のタンパク質と数種の RNA から成る巨大複合体。

（注 7）メッセンジャーRNA (mRNA)

DNA に保存された遺伝情報をタンパク質合成の場であるリボソームへ伝達する RNA。

（注 8）コドン

mRNA 上に並ぶ 3 塩基からなる遺伝暗号の単位。各コドンは特定のアミノ酸またはタンパク質合成の開始・終了を指定する。

（注 9）pre-tRNA キャッピング

pre-tRNA の 5'末端にメチル化グアノシンキャップ修飾が付加される現象。従来、キャップ修飾は主に mRNA に見られると考えられていたが、研究グループは酵母などの真核生物において pre-tRNA もキャップ修飾が付加されていることを発見した。

（注 10）CaSh-seq（Capped Short RNA-sequencing）法

本研究で開発した、キャップ修飾を持つ短鎖 RNA を網羅的に検出・解析する手法。抗キャップ修飾抗体を用いた免疫沈降法と NGS 解析を組み合わせることで、キャップ化された RNA を高感度かつ包括的に同定する。

（注 11）翻訳開始因子 eIF4E

真核生物の翻訳開始因子複合体を構成するキャップ結合タンパク質。mRNA のキャップ修飾を認識し、リボソームを呼び込むことでキャップ依存的なタンパク質合成を促進する。

（注 12）RNA 修飾

RNA に修飾酵素によって導入される化学的な修飾。これまでに約 150 種類が報告されており、RNA の機能・安定性・細胞内局在、タンパク質合成の効率や精度、自己非自己の認識などに関わることが知られ、遺伝子発現制御に重要な役割を果たしている。

（注 13）プロテオスタシス

細胞内のタンパク質の合成、折りたたみ、輸送、分解を適切に制御し、タンパク質の量と品質を維持する仕組み。プロテオスタシスの破綻は細胞機能の異常や疾患の原因となることが知られている。

（注 14）RNA ポリメラーゼ III

DNA 上の遺伝情報を RNA へ転写する RNA 合成酵素の 1 つ。真核生物において RNA ポリメラーゼ III は tRNA や 5S rRNA などの機能性 RNA を合成する。RNA ポリメラーゼ II のようなキャップ修飾を導入する仕組みを持たない。

（注 15）RNA ポリメラーゼ II

DNA 上の遺伝情報を RNA へ転写する RNA 合成酵素の 1 つ。真核生物において RNA ポリメラーゼ II は mRNA や snRNA などを合成する。転写時に mRNA の 5'末端へキャップ修飾を導入する仕組みを持つ。

（注 16）次世代シーケンス（NGS）解析

次世代シーケンサー（Next Generation Sequencer）を用いて大量の DNA や RNA 配列を網羅的に解析する手法。遺伝子発現解析や変異解析など生命科学研究に広く利用されている。

（注 17）免疫沈降

抗体の特異性と親和性を利用して特定のタンパク質や RNA を選択的に回収する実験手法。

（注 18）ノーザンブロット解析

RNA の種類や量を検出する解析手法。電気泳動で分離した RNA をメンブレンへ転写し、目的 RNA に結合する標識プローブを用いて検出する。

（注 19）ドキシサイクリン（Dox）

テトラサイクリン系抗生物質の一種。細菌のタンパク質合成を阻害する作用を持つ。分子生物学研究では遺伝子発現を転写レベルで制御する Tet-On/Tet-Off システムに利用されている。

(注 20) 塩基対形成確率

RNA 分子内で 2 つの塩基が対を形成する可能性を数値化したもの。RNA の二次構造予測に利用され、値が高いほど安定な塩基対を形成しやすいことを示す。

(注 21) IRES

Internal Ribosome Entry Site の略。mRNA の内部にあるリボソームを呼び込む RNA 配列であり、通常必要なキャップ修飾を介さずに翻訳を開始させる。

(注 22) ナノルシフェラーゼ (Nluc)

深海エビ由来の高輝度ルシフェラーゼ。遺伝子発現や翻訳効率を測定するレポーターとして広く利用されている。

(注 23) 試験管内翻訳系

細胞から調製した抽出液を用いて、試験管内でタンパク質合成を再現する実験系。

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)

東京大学大学院工学系研究科

助教 大平 高之 (おおひら たかゆき)

〈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 推進第 2 グループ

今林 文枝 (いまばやし ふみえ)