

16. コドン最適化とリボソーム衝突依存の mRNA 分解経路の解明

東京大学医科学研究所 教授 稲田 利文

概要

本研究では、翻訳過程におけるリボソームの挙動と mRNA 安定性制御の分子機構を明らかにすることを目的とした。まず、哺乳類細胞におけるコドン最適化（翻訳速度）依存的 mRNA 分解機構（COMD）の解析を行い、CCR4-NOT 複合体および GIGYF2 の関与を検証した。その結果、CNOT3 欠失では顕著な影響は見られなかったが、GIGYF2 欠損によりコドン最適化依存分解の低下が示唆された。さらに、衝突リボソーム依存的 mRNA 分解機構（NGD）について酵母および哺乳類細胞で解析を行ったところ、ZNF598 および GIGYF2 が mRNA 分解に関与することが明らかとなった。一方、酵母 Cue2 の相同因子 N4BP2 は関与しない可能性が示され、代わりに NMD 因子 SMG6 による切断が関与することが示唆された。これらの結果は、翻訳過程に連動した mRNA 品質管理機構の保存性と種差を示すものであり、遺伝子発現制御および疾患理解の基盤となる知見を提供する。

背景および目的

遺伝子発現の制御は生命現象の根幹を成す重要な過程であり、その分子機構の理解は多様な生命現象の解明だけでなく、疾患発症メカニズムの理解にも不可欠である。特に翻訳過程におけるリボソームの伸長速度は、タンパク質産生量の調節に加え、合成中ポリペプチドのフォールディングや細胞内ターゲティング、さらには mRNA の安定性にも密接に関与することが知られている。我々は、翻訳伸長速度を細胞がどのように感知し、各 mRNA が固有の安定性を持つ仕組みがどのように決定されるのかを明らかにすることを目的として研究を進めている。

近年、出芽酵母を用いた研究により、主要な mRNA 分解因子であるポリ(A)短鎖化酵素 CCR4-NOT 複合体が、翻訳速度の遅いリボソームに効率よく結合し mRNA の安定性を制御することが明らかとなった（Science 2020）。この成果を踏まえ、本研究ではまず、哺乳類細胞におけるコドン最適化（翻訳速度）依存的 mRNA 分解機構（COMD: Codon-mediated mRNA decay）の解明を目的とした。特に、CCR4-NOT 複合体が翻訳速度を感知し mRNA 分解速度を制御する機構が哺乳類細胞においても保存されているかを明らかにすることを目的とした（目的1）。一方、遺伝子発現の正確性は正常な生命活動を維持するために不可欠であり、細胞には異常な遺伝子産物を排除する品質管理機構が備わっている。翻訳異常により生じる不良タンパク質の蓄積はタンパク質恒常性の破綻を引き起こし、オルガネラ機能障害やシグナル伝達の異常を誘発する。その結果、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患や老化の原因となることが知られている。翻訳品質管理機構の一つである RQC（Ribosome-associated quality control）は、翻訳停止やリボソーム衝突を認識して異常翻訳を解消する。また、衝突リボソームを生じた mRNA は No-Go Decay（NGD）と呼ばれる分解経路により迅速に除去される。我々はこれまで出芽酵母において NGD の分子機構を解析し、RQC 依存経路と RQC 非依存経路という二つの分解経路が存在することを明らかにした。しかし、哺乳類細胞における NGD の分子機構は十分に解明されていない。そこで本研究では、哺乳類細胞における衝突リボソーム依存的 mRNA 分解機構（NGD）の解明を第二の目的とした（目的2）。これら二つの mRNA 分解機構、すなわち翻訳速度依存分解と衝突リボソーム依存分解を並行して解析することで、正常翻訳および異常翻訳における mRNA 監視機構の包括的理解を目指した。

方法

哺乳類細胞における COMD 機構の解析（目的 1）では、まず CCR4-NOT 複合体による翻訳速度感知機構の保存性を検証した。出芽酵母では NOT5 サブユニットの N 末端領域がリボソーム E 部位に結合することが知られているため、そのヒト相同因子である CNOT3 の N 末端領域を欠失した HEK293 細胞を作製した。次に、翻訳速度（コドン最適化）が異なる GFP 変異遺伝子を Tet-Off 転写制御系で発現させ、ドキシサイクリン処理による転写停止後の mRNA 半減期を測定することで mRNA 安定性を評価した。さらに、mRNA 安定性に対するコドン最適化と RNA 二次構造の寄与を評価するため、ヒト約 9300 遺伝子の ORF について同義コドン置換を網羅的に導入し、RNA 二次構造の安定性を SHIROKANE を用いて予測した。その結果を基に代表的な遺伝子群を抽出し、コドン最適化と RNA 二次構造の組み合わせが異なるモデル ORF を設計した。これらを Tet-Off 系に組み込み、レンチウイルスまたはトランスポゾンを用いて HEK293 細胞に安定発現させた。40 種類のクローンを共培養し、転写停止後に RNA を回収して RNA-seq 解析を行い、同一条件下で mRNA 半減期を網羅的に測定した。

NGD 機構の解析（目的 2）では、まず出芽酵母を用いてリボソーム衝突によって誘導される mRNA 分解経路の寄与を解析した。具体的には、CGA コドンを 12 回繰り返すレポーター mRNA を用い、mRNA 切断因子 Cue2 経路、衝突リボソーム結合因子 GIGYF 経路、CCR4-NOT による翻訳速度依存分解経路の寄与を評価した。さらに哺乳類細胞では、衝突リボソームセンサー ZNF598、mRNA 分解因子候補 N4BP2、衝突リボソーム結合因子 GIGYF2 を欠損させた HEK293T 細胞株を作製し、リジンコドンを 20 回連続させた Tet-Off レポーターを用いて mRNA 安定性を解析した。

結果および考察

目的 1 については CNOT3 の N 末端領域を欠失した HEK293 細胞において、コドン最適化の異なる GFP レポーターの mRNA 半減期を測定したが、顕著な変化は観察されなかった。一方、GIGYF2 欠損細胞ではコドン最適化依存分解の軽度な低下が確認され、GIGYF2 が COMD 機構に部分的に関与する可能性が示唆された。

目的 2 について、まず酵母において NGD 関連遺伝子変異体を解析した結果、hel2 syh2 smy2 二重変異体および cue2 syh2 smy2 三重変異体においてレポーター mRNA の顕著な安定化が観察され、複数の分解経路が冗長的に機能していることが示された。また Cue2 タンパク質の機能解析により、C 末端ヌクレアーゼドメインがポリソーム結合に必須であり、エンドヌクレアーゼ依存的 mRNA 切断が主要な分子機構であることが明らかとなった。

哺乳類細胞では、ZNF598 および GIGYF2 の欠損により mRNA の安定化が観察され、両者の同時欠損によりさらに強い安定化が生じた。一方、N4BP2 欠損は mRNA 安定性に影響を与えず、酵母 Cue2 の機能的相同体ではない可能性が示唆された。さらに XRN1 欠損細胞での解析により、NGD レポーター mRNA から生じる RNA 断片が検出され、その切断位置は poly(AAA)配列下流に存在することが明らかとなった。この切断は NMD 因子 SMG6 に依存しており、poly(AAA)配列上でのリボソームスリップにより翻訳フレームが変化し早期終止コドンが生成されることで SMG6 依存切断が誘導される可能性が示された。

本研究の結果から、リボソーム衝突に応答する mRNA 品質管理には、Hel2/ZNF598 および Syh1/GIGYF2 を中心とする進化的に保存された分解経路が存在することが示唆された。一方、酵母における Cue2 依存的 mRNA 切断機構は哺乳類では異なる形で機能しており、NMD 因子 SMG6 が関与する可能性が明らかとなった。

翻訳過程でのリボソーム衝突は mRNA 監視機構を活性化する重要なシグナルであり、異常 mRNA の迅速な除去は細胞内恒常性の維持に不可欠である。本研究は、翻訳速度依存分解と衝突リボソーム依存分解という二つの mRNA 品質管理機構の関係を明らかにし、mRNA 監視機構の進化的多様性の理解に貢献する成果である。さらに本研究で得られた知見は、将来的な治療用 mRNA 設計や翻訳品質管理機構の理解に重要な基盤を提供することが期待される。

(完)

発表論文

- 1) 1) Hashimoto, S.*, Sauerland, J., Zeng, J., Kikuguchi, C., Inada, T.*
Parallel ZNF598 and GIGYF2 pathways mediate conserved collision-dependent mRNA decay with distinct endonucleolytic features
bioRxiv <https://doi.org/10.64898/2026.01.01.697312>
- 2) 2) Li, S., Shounai, O., Kato, M., Ikeuchi, K. Inada, T.*
Collision-induced ribosome degradation driven by ribosome competition and translational perturbations.
Nat Commun. DOI:10.1038/s41467-025-66026-x (2025)