



ヒトミトコンドリア tRNA 修飾の全体像を解明
—RNA 修飾異常疾患の究明へ大きな前進—

1. 発表者：

- 鈴木 健夫 (東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 講師)
- 八代 悠歌 (研究当時：東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 博士課程 3年)
- 菊池 一徳 (東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 博士課程 2年)
- 石神 宥真 (東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 特任研究員)
- 斉藤 大寛 (理化学研究所 開拓研究本部 岩崎 RNA システム生化学研究室 研修生／
研究当時：東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻
修士課程 1年)
- 松澤 郁也 (研究当時：東京大学工学部 化学生命工学科 4年)
- 岡田 俊平 (研究当時：東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 研究員／
現：東京理科大学 生命医科学研究所 分子病態学研究部門 助教)
- 水戸 麻理 (理化学研究所 開拓研究本部 岩崎 RNA システム生化学研究室
テクニカルスタッフ I)
- 岩崎 信太郎 (理化学研究所 開拓研究本部 岩崎 RNA システム生化学研究室 主任研究員／
東京大学大学院新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻 准教授)
- 馬 丁 (研究当時：東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 修士課程 2年)
- 趙 雪薇 (研究当時：東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 修士課程 2年)
- 浅野 奏 (研究当時：東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 修士課程 2年)
- 林 桓 (研究当時：東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 博士課程 3年／
現：Assistant Professor in State Key Laboratory of Marine Resource
Utilization in South China Sea, Hainan University)
- 桐野 陽平 (Associate Professor in Department of Biochemistry and Molecular Biology,
and Computational Medicine Center, Thomas Jefferson University)
- 坂口 裕理子 (東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 特任研究員)
- 鈴木 勉 (東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻 教授)

2. 発表のポイント：

- ◆ ヒトのミトコンドリア (注1) tRNA (注2) の全 22 種類を精製し、網羅的な解析を行ったところ、18 種類の tRNA 修飾 (注3) が 137 ヶ所に導入されていた。
- ◆ ミトコンドリア tRNA に含まれるキューオシン (Q) 修飾を担う 2 つのヒト遺伝子を特定し、Q 修飾の欠損は特定のコドンの解読速度の低下をもたらすことを見出した。
- ◆ 本研究は、将来的に tRNA の修飾異常に起因するさまざまな疾患の発症機構の解明に貢献することが期待される。

3. 発表概要：

東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻の鈴木健夫講師および鈴木勉教授を中心とする研究グループは、ヒトのミトコンドリア tRNA の全 22 種類を単離精製し、これまで未調査であった tRNA 種に含まれる修飾ヌクレオシドおよびその導入部位をすべて特定した。ヒトミトコンドリア tRNA 全体で 18 種類の修飾が 137 ヶ所に導入されているという全体像が明らかとなった。また、そのうちキューオシン (Q) 修飾を担う 2 つの遺伝子を新たに特定した。さらに、この tRNA 修飾の機能解析を、理化学研究所の岩崎信太郎主任研究員の研究グループと共同で行い、特定のコドンの翻訳速度を高める役割を明らかにした。本研究は、将来的にミトコンドリア関連疾患の発症機構の究明に大きく貢献することが期待される。本研究成果は 8 月 28 日 (英国時間) に科学誌「*Nature Communications*」に掲載された。

4. 発表内容：

ミトコンドリアは真核細胞に見られる細胞内オルガネラであり、呼吸を通じて細胞が必要とするエネルギー生産の大部分を担う。また、代謝やシグナル伝達などの制御にもさまざまな形で関わっている。ミトコンドリアはその内部に核とは独立した独自のゲノム (mtDNA) を持ち、mtDNA にコードされた mRNA、rRNA、tRNA を用いて、呼吸に必要なタンパク質を合成 (翻訳) している。tRNA は、mRNA にコードされた遺伝暗号を解読し、タンパク質のアミノ酸配列へと変換する重要な役割を担う重要なアダプター分子である。tRNA は転写後に多様な化学修飾を受けることが知られている。これらの修飾は tRNA の立体構造の保持や、遺伝暗号解読の効率や精度の維持のために重要である。

ミトコンドリア病は、ミトコンドリアの機能異常を伴い、エネルギー需要の激しい組織や臓器に障害をきたす重篤な疾患である。ミトコンドリア病の約 7 割は、mtDNA の点変異が原因であることが知られている。これまで報告された約 770 ヶ所の変異のうち、tRNA 遺伝子上の変異が約 4 割を占める。ミトコンドリア病の代表病型の 1 つ MELAS では、原因となる点変異がロイシン特異的な tRNA 上に存在する。過去の研究で、本研究グループは、ヒトミトコンドリア tRNA からタウリンを含む新規 tRNA 修飾 (5-タウリノメチルウリジン) を発見した。また、MELAS の変異 tRNA を解析したところ、このタウリン修飾が顕著に減少していることを見出した。さらに、タウリン修飾の欠損がミトコンドリア tRNA の機能不全をもたらし、MELAS の直接的な要因となっていることを明らかにした。この知見は、ヒトの疾患が RNA 修飾の欠損によって引き起こされることを示した世界で初めての例であり、本研究グループは疾患の新しいカテゴリーとして RNA 修飾病 (RNA modopathy) (注 4) を提唱している。この研究をきっかけに、さまざまな疾患の原因が RNA 修飾の欠損によるものであることが続々と報告されている。RNA 修飾病の原因やその治療法を開発するためには、tRNA に含まれる修飾の種類や位置を同定する必要がある。しかし、その全容は明らかでなく、疾患の原因となる多様な tRNA 上の点変異と修飾異常の関係を調べることは困難であった。

鈴木健夫講師および鈴木勉教授を中心とした研究グループは、ヒトにおける全 22 種類のミトコンドリア tRNA を単離精製し、高精度 RNA 質量分析法 (RNA-MS) と、次世代シーケン

ス技術を駆使したシュードウリジン(Ψ)検出法 (tRNA- Ψ -seq) を組み合わせることにより、ヒトミトコンドリア tRNA の全修飾部位を同定することに成功した。最終的に、ヒトミトコンドリア tRNA 全 22 種類中に、18 種類の RNA 修飾が 137 ヶ所に存在することを明らかにした (図 1)。

tRNA を修飾する酵素はすべて核ゲノムにコードされていることが知られている。本研究成果を基に、ヒトミトコンドリア tRNA 修飾の生合成に、関わる遺伝子として、候補遺伝子を含め、34 個の遺伝子がリストアップされた。実際にこれらの遺伝子の変異がヒトの疾患に関わることが知られている。本研究グループは、ミトコンドリア tRNA のアンチコドンに存在するキューオシン (Q) 修飾の生合成に関わる候補遺伝子として *QTRT1* と *QTRT2* に着目した。これらの遺伝子をそれぞれ、ゲノム編集の技術で遺伝的に欠損させたところ、ミトコンドリア tRNA に Q 修飾が形成されないことを見出した。したがって、両遺伝子はいずれもミトコンドリア tRNA の Q 修飾に必須であることが判明した。次に、理化学研究所開拓研究本部の岩崎信太郎主任研究員らとの共同研究により、*QTRT2* 欠損細胞においてミトコンドリアリボソームプロファイリング法を実施した。その結果、*QTRT2* 欠損細胞におけるミトコンドリア tRNA の Q 修飾が解読するコドンの解読速度を野生型細胞と比較したところ、Tyr をコードする UAU コドンの解読速度が有意に低下する傾向が観察された。さらに、ホタルルシフェラーゼ (Fluc) と緑色蛍光タンパク質 (GFP) の融合遺伝子を細胞質で発現させ、Fluc の変性によるタンパク質の凝集体を GFP の蛍光で観察するアッセイを *QTRT2* 欠損細胞と野生型細胞で比較したところ、*QTRT2* 欠損細胞において凝集体の顕著な増加が観察された。Q はヒトを含め動物にとって重要な栄養素であり、腸内細菌や食事から摂取される。マウスにおいて Q の欠乏は幼生致死性を示す。本研究の結果は、ミトコンドリア tRNA の Q 修飾の機能的かつ生理的な重要性を示唆するものである。

ヒトミトコンドリアにおける tRNA 修飾の全体像の解明は、ミトコンドリアにおけるタンパク質合成のメカニズムを理解するだけでなく、新たな tRNA 修飾遺伝子の特定や、将来的にミトコンドリア tRNA 修飾の異常に起因する疾患の発症機構の解明に貢献することが期待される。また、将来的にミトコンドリア機能異常が原因の疾患の診断や治療法の開発につながることを期待される。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Nature Communications*」

論文タイトル：Complete chemical structures of human mitochondrial tRNAs

著者：Takeo Suzuki, Yuka Yashiro, Ittoku Kikuchi, Yuma Ishigami, Hironori Saito, Ikuya Matsuzawa, Shunpei Okada, Mari Mito, Shintaro Iwasaki, Ding Ma, Xuewei Zhao, Kana Asano, Huan Lin, Yohei Kirino, Yuriko Sakaguchi and Tsutomu Suzuki

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院工学系研究科 化学生命工学専攻
教授 鈴木 勉 (すずき つとむ)

7. 用語解説:

(注1) ミトコンドリア

細胞内小器官の一つであり、呼吸鎖複合体を用いてエネルギー分子である ATP を産生する役割を担う。核ゲノムとは独立した DNA を持ち、呼吸鎖複合体のいくつかのタンパク質をミトコンドリア内で合成する。そのためにミトコンドリア専用のリボソームや tRNA を保持する。

(注2) tRNA

mRNA 上の遺伝暗号 (コドン) を解読し、対応するアミノ酸へと変換するアダプター分子。

(注3) tRNA 修飾

tRNA が転写後に酵素的に付与される化学構造。tRNA の安定性や遺伝暗号の解読に重要な役割を担う。

(注4) RNA 修飾病

RNA の転写後修飾が形成されないことで生じる遺伝病。発表者らのグループは、ミトコンドリア脳筋症の代表病型である MELAS や MERRF が、ミトコンドリア tRNA のタウリン修飾の欠損が原因であることを突き止め、疾患の新しいカテゴリーとして RNA 修飾病(RNA modopathy)を提唱した。

8. 添付資料：

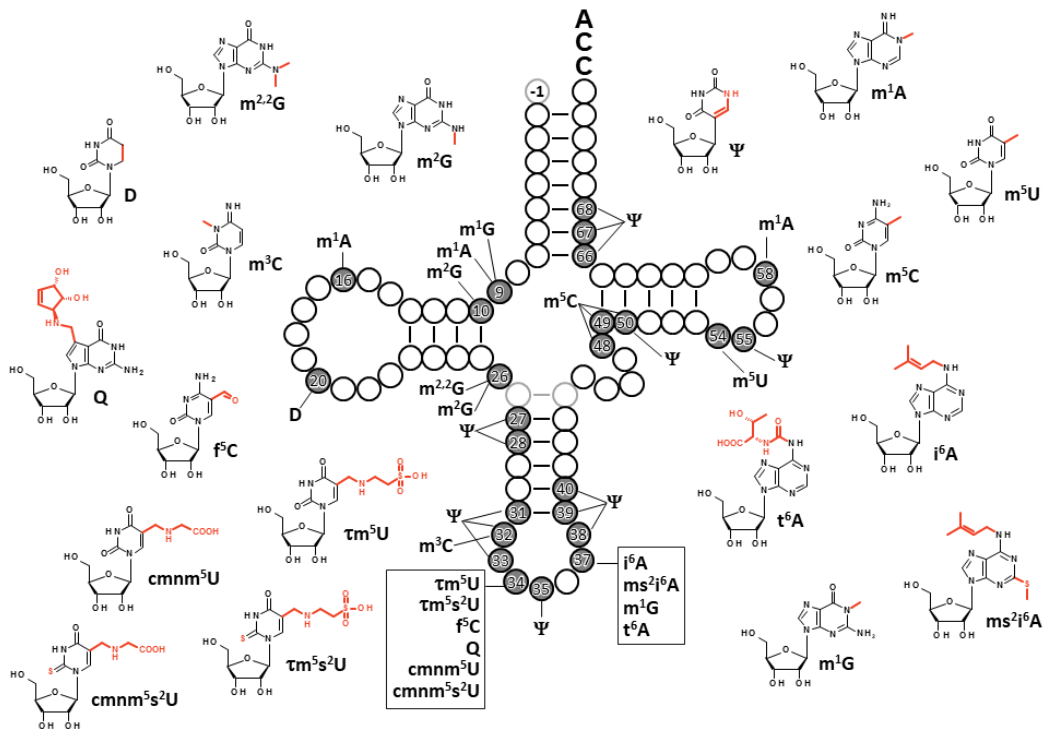


図1 ヒトミトコンドリア tRNA で同定された RNA 修飾の部位と化学構造

22 種類の tRNA の各部位に存在する RNA 修飾をまとめて示した。修飾の官能基を赤で記した。修飾塩基の略称は次の通り。m¹G, 1-メチルグアノシン; m²G, N²-メチルグアノシン; m^{2,2}G, N², N²-ジメチルグアノシン; m¹A, 1-メチルアデノシン; D, ジヒドロウリジン; Ψ, シュードウリジン; m³C, 3-メチルシチジン; τm⁵U, 5-タウリノメチルウリジン; τm⁵s²U, 5-タウリノメチル-2-チオウリジン; f⁵C, 5-ホルミルシチジン; Q, キューオシン; cmnm⁵U, 5-カルボキシメチルアミノメチルウリジン; cmnm⁵s²U, 5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン; i⁶A, N⁶-イソペンテニルアデノシン; ms²i⁶A, 2-メチルチオ-N⁶-イソペンテニルアデノシン; t⁶A, N⁶-スレオニルカルバモイルアデノシン; m⁵C, 5-メチルシチジン; m⁵U, 5-メチルウリジン