

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		翻訳フレーム維持における品質管理因子の新規機能の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of novel role of quality control factors maintain translation reading-frame			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)イナダ	名)トシフミ	研究期間 B	2014 ~ 2015 年
	漢字 CB	稲田	利文	報告年度 YR	2016年
	ローマ字 CZ	INADA	TOSHIFUMI	研究機関名	東北大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東北大学大学院薬学研究科遺伝子制御薬学分野・教授			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>正確な遺伝子発現はすべての生命現象の根幹であり、その破綻や異常は様々な疾患の原因となる。同義コドンへの置換であるサイレント変異が疾患の原因となることは、翻訳伸長反応の精密な制御が、正確な遺伝子発現に極めて重要であることを示している。研究代表者は、出芽酵母において使用頻度の低いレアコドン CGA が連続した場合に、翻訳伸長反応が阻害される結果、①mRNA の分子内切断と、②合成途中の新生鎖のプロテアソームによる迅速な分解、の2つの品質管理機構が起こることを見出した(<i>JBC</i>, 2009; <i>Mol. Cell</i>, 2012; <i>Genes Cells</i>, 2014)。この連続した CGA コドンによる翻訳伸長反応の阻害には、40S リボソームに安定に結合する RACK1 と 60S リボソーム結合する E3 ユビキチンライゲース Hel2 が必須である (<i>EMBO Rep.</i>, 2010; <i>Cell</i>, 2012)。研究代表者は、品質管理因子 RACK1 の欠失変異株において、GA レアコドンを翻訳中のリボソームが高頻度で+1フレームシフトを起こすことを見出した。従って本研究では、連続した CGA コドンを翻訳する際に<u>正しいフレームが維持される分子機構</u>を解析した。</p> <p>まず、40S リボソームへの結合に欠損を示す <i>rack1</i> 変異体における CGA レアコドンでの+1フレームシフトの頻度を測定した。その結果、<i>rack1</i> 変異体では CGA コドンの数に比例して+1フレームシフトが増加することが明らかとなった。次に、ルシフェラーゼ遺伝子を用いた各種レポーターを構築し、+1フレームシフトを測定すると同時に、質量分析により+1フレームシフト産物のアミノ酸配列を決定することでフレームシフトの位置を確認した。その結果、CGA コドンが P サイトに存在する場合にのみ、+1フレームシフトが起こることが明らかとなった。CGA コドンの3文字目 A は対応する tRNA の I (イノシン) と塩基対形成する。tRNA の1文字目を U に置換した変異体 tRNA を発現させた結果、+1フレームシフトが有為に抑制された。従って、Wobble 位置における A-I 塩基対合が <i>rack1</i> 変異体における高頻度の+1フレームシフトを重要であることを明らかにした。</p> <p>本研究で、正しいフレームの維持という遺伝子発現の根本的な反応における品質管理の新規機能が明らかとなった。トリプレットリピート病の原因配列におけるフレームシフトの効率を上昇させ症状を緩和させる治療法開発の分子基盤となることが期待される。現在、論文作成中であり後日提出する。また、本研究の解析の過程で翻訳伸長反応の阻害に起因する mRNA 分子内切断に tRNA 成熟化因子が関与することを見出したため、論文発表した。</p>					
キーワード FA	品質管理	翻訳アレスト	レアコドン	フレームシフト	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	The tRNA Splicing Endonuclease Complex Cleaves the Mitochondria-localized <i>CBP1</i> mRNA							
	著者名 ^{GA}	Tsuboi, T., Yamazaki, R., Nobuta, R., Ikecuhi, K., Makino, S., Ohtaki, Y., Suzuki, Y., Yoshihisa, T., Trotta, C. and Inada, T.	雑誌名 ^{GC}	<i>J Biol. Chem.</i>					
	ページ ^{GF}	16021~16030	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	290
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

During translation elongation step, ribosomes must maintain translational reading frame in order to translate primary genetic information into polypeptides. However, cis-acting signals located on mRNAs represent higher order information content that can be used to direct a fraction of elongating ribosomes to shift reading frame by one base in the upstream (-1) or downstream (+1) direction. This is called programmed ribosomal frame-shifting (PRF), and a common feature of the signals to induce +1 or -1RFS is induction of ribosome pausing, which alters kinetic partitioning rates between in-frame and out-of-frame codons at specific "slippery" sequences. Translation arrest induces quality controls for aberrant mRNA and products, however, it is still unknown whether if translation arrest by polybasic sequences, rare codons and G-quadruples sequence could induce ribosomal frame-shift.

Translation elongation rate is regulated to ensure proper conformation and biological function of proteins. The stalling of ribosomes during translational elongation due to the formation of stable RNA secondary structure, rare codons, positively charged residues leads to No-Go Decay (NGD), an endonucleolytic cleavage of the mRNA in the vicinity of the stalled ribosome. Translation arrest induced by a nascent peptide with positively charged residues results in co-translational degradation of the arrested protein product by the proteasome, a process that is referred to as Ribosome Quality Control (RQC). Receptor for activated C-kinase (RACK1, ASC1 in yeast) is a 40S ribosomal subunit-associated factor and involved in NGD and RQC. Here, we show that +1 ribosomal frame-shift (+1RFS) was induced by tandem CGA codons and poly-lysine sequences, and in proportion to the number of the CGA codons in *rack1Δ* cells. Mass spectrometry analysis revealed that +1RFS occurred after second CGA codon of tandem CGA codons, suggesting that the weak A-I interaction at wobble position between CGA codon and tRNA_{Arg}(ICG) in P-site of ribosome induces +1RFS. We propose that high-frequent +1RFS may lead to the dissociation of stalled ribosome into subunits and degradation of the arrest products. We also found that the tRNA splicing endonuclease (Sen) complex cleaves the mitochondria-localized *CBP1* mRNA *in vivo* and *in vitro*. Mitochondrial localization of the Sen complex is required for cleavage of the *CBP1* mRNA. These suggest the potential correlation between mitochondrial localization of mRNAs and their endonucleolytic cleavage.