

## 要 旨

あらゆる生命現象は、遺伝子発現の微調節によって生じている。したがって、遺伝子の発現調節を理解することは、生命活動や生命現象を理解する上で最も重要な課題の一つであり、医療や創薬などの応用研究へもつながることが期待される。

RNA は転写後に様々な修飾を受けることが知られており、もはやゲノム配列から知りうる情報だけで RNA の機能は語れない状況にある。実際、これまでに 130 種類を超える RNA 修飾が、様々な生物種から見つかっている。RNA 修飾は mRNA、tRNA、rRNA をはじめ、あらゆる non-coding RNA にも普遍的に存在し、RNA が機能する上でこれらの修飾は見過ごすことのできない重要な質的情報である。多様な RNA 修飾は RNA が新たな機能を獲得するための戦略と捉えることができる。RNA 修飾の担う役割としては、細胞内局在の決定、立体構造の安定化、RNA 結合タンパク質との相互作用、遺伝情報の修飾と解読などが知られているが、その機能と生合成過程には未解明な部分が多く残されている。近年の次世代シーケンサーを用いた大規模なトランスクリプトーム解析によって、イノシン (I) や N<sup>6</sup>メチルアデノシン (m<sup>6</sup>A) をはじめとする数種類の修飾が、mRNA や non-coding RNA から大量に見つかり、エピトランスクリプトームという概念が提唱されている。私たちは、様々な生物種から、微量な RNA を単離精製し、質量分析法 (RNA-MS) を駆使することで、新しい RNA 修飾を探索している。これまでに、当研究室では 6 種類の新規 RNA 修飾を報告し、40 種類を超える新規 RNA 修飾遺伝子を同定しており、RNA 修飾の生合成過程や生理学的意義に関する研究を行っている。

RNA 修飾は修飾酵素の発現量や基質となるメタボライトの濃度で制御され、時空間的に変化すると考えられている。しかし、RNA 修飾の変動を直接的に観測した例は少なく、どのような状況で修飾率が変動し、それがどのような生命現象に関わっているかについてはよくわかっていないのが現状である。N<sup>6</sup>-threonyl-carbamoyladenine (t<sup>6</sup>A) は tRNA のアンチコドン 3' 隣接部位に位置し、精確なコドンとの対合に関与することで、タンパク質合成を高い精度に維持する重要な RNA 修飾である。バクテリアからヒトに至るほとんどすべての生物がこの修飾を有していることから機能的な重要性が窺える。実際、バクテリアの t<sup>6</sup>A 修飾酵素は必須遺伝子にコードされており、t<sup>6</sup>A 修飾は生育に不可欠であることが知られている。私たちは最近、ヒトミトコンドリア tRNA の t<sup>6</sup>A 修飾酵素を同定し、*in vitro* における t<sup>6</sup>A 修飾形成反応の速度論的な解析を行った。t<sup>6</sup>A 修飾形成に

は、L-Thr、ATP、重炭酸イオン( $\text{HCO}_3^-$ )/ $\text{CO}_2$  を基質に使用するが、重炭酸イオン( $\text{HCO}_3^-$ )に対する  $K_m$  値が約 30 mM と非常に高い値を示すことが判明した。ミトコンドリア内の重炭酸イオン濃度は 10~40 mM であると見積もられていることから、私たちは t<sup>6</sup>A の修飾率が、ミトコンドリア内の重炭酸イオン/ $\text{CO}_2$  の濃度変化によってダイナミックに調節される可能性を考えた。細胞内の重炭酸イオン/ $\text{CO}_2$  は、ミトコンドリア内の呼吸に伴って生じるもの以外に、細胞外からも供給される。細胞の効率的な生育には、呼吸で生じる  $\text{CO}_2$  のみでは不十分であり、細胞外からの重炭酸イオン/ $\text{CO}_2$  の供給が不可欠であることが知られている。通常の場合で、哺乳動物細胞を培養する際には、培地中に 44mM の重炭酸イオンが含まれ、気相にも 5%  $\text{CO}_2$  が含まれている。そこで、培地から重炭酸イオンを除き、HeLa 細胞を空気中で培養した。この細胞から 5 種類のミトコンドリア tRNA を単離し、t<sup>6</sup>A 修飾率を計測したところ、2 種類のミトコンドリア tRNA で、修飾率の顕著な減少が観測された。一般に tRNA 修飾は変動しないと考えられてきたが、この結果は、t<sup>6</sup>A 修飾が細胞内の重炭酸イオン/ $\text{CO}_2$  濃度を感知することで、修飾率が調節されていることを意味している。t<sup>6</sup>A 修飾の有無は tRNA のコドン解読能に直接影響を与えていることから、もともと哺乳動物細胞は、重炭酸イオン/ $\text{CO}_2$  濃度の変化をモニターすることでミトコンドリア内の翻訳を調節するしくみを有していることが判明した。固形がんはミトコンドリアの機能が低下するという、ワールブルク効果が知られている。細胞が低酸素環境下におかれた際に、重炭酸イオン/ $\text{CO}_2$  濃度が低下し、t<sup>6</sup>A 修飾率が下がることで、ミトコンドリアの翻訳活性が低下するしくみこそが、ワールブルク効果の本質的な原因ではないかと、私は考えている。

本講演では、RNA 修飾の調節機構に関する話題を中心に、RNA 修飾病に関する研究成果についても紹介したい。

## 参考文献

- Ohira T, Suzuki T. Precursors of tRNAs are stabilized by methylguanosine cap structures. *Nat Chem Biol*. 2016; 12: 648-655.
- Nakano S, Suzuki T, Kawarada L, Iwata H, Asano K. Suzuki T. NSUN3 methylase initiates 5-formylcytidine biogenesis in human mitochondrial tRNA<sup>Met</sup>. *Nat Chem Biol*. 2016; 12: 546-551.
- Frye M, Jaffrey S, Pan T, Rechavi G, Suzuki T. RNA modifications: what have we learned and where are we headed? *Nat Rev Genet*. 2016; 17: 365-372.

- Arai T, Ishiguro K, Kimura S, Sakaguchi Y, Suzuki T, Suzuki T. Single methylation of 23S rRNA triggers late steps of 50S ribosomal subunit assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112: E4707-E4716.