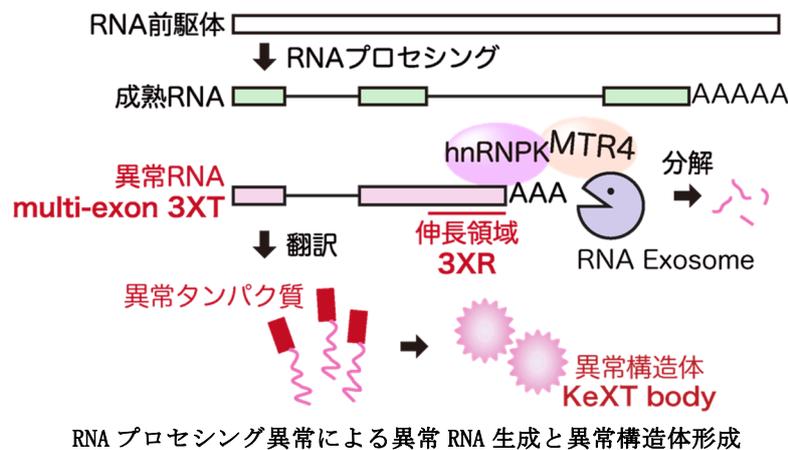


東京大学
 早稲田大学

異常な病的タンパク質を作らないために ——mRNA の品質を管理する仕組みの発見——

発表のポイント

- ◆ 遺伝子 DNA からメッセンジャーRNA が作られる転写反応で、転写が途中で誤って停止するために異常メッセンジャーRNA が作られています。このような異常メッセンジャーのうち、最終エクソンが3'側のイントロンまで伸長したタイプを3XTと名付けました。
- ◆ 3XTの発生を監視して除去するために、核内RNA分解を制御するMTR4タンパク質とRNAに結合するhnRNPKタンパク質が協力していることを発見し、3XTを除去できないと3XTから異常な病的タンパク質が生産され、この病的タンパク質が細胞内に病的構造物を作ることを見いだしました。すなわち、病的構造体形成を阻害するRNA品質管理機構が細胞核内に存在していることを明らかにしました。
- ◆ 本成果は、RNA品質管理機構を標的とした薬剤の開発や疾患の治療法の発展に貢献すると期待されます。



概要

東京大学アイソトープ総合センターの秋光信佳教授、谷上賢瑞特任准教授、早稲田大学理工学術院の浜田道昭教授、曾超研究院講師、東京大学大学院新領域創成科学研究科の鈴木穰教授、関真秀特任准教授らによる研究グループは、RNAヘリカーゼMTR4（注1）がRNA結合タンパク質hnRNPK（注2）と協調し、転写反応中に起きるRNAプロセッシング（注3）の制御異常で生じる異常RNA群（3XT、注4）を分解していることを明らかにしました。また、KCTD13遺伝子座から発現するKCTD13 3XTの翻訳産物が、相分離（注5）制御を介して異常な構造体KeXT body（注6）を形成していることを見出しました（図1）。

本研究では、ナノポアシークエンサー（注7）を用いたdirect RNA sequencing技術（注8）を用いることで3XTの発見に繋がりました。異常RNAを分解することで、異常RNA翻訳産物の

異常構造体形成を阻害する RNA 品質管理機構が存在していることが明らかになり、この研究成果は様々な疾患の診断/治療法開発の重要な基盤となることが期待されます。

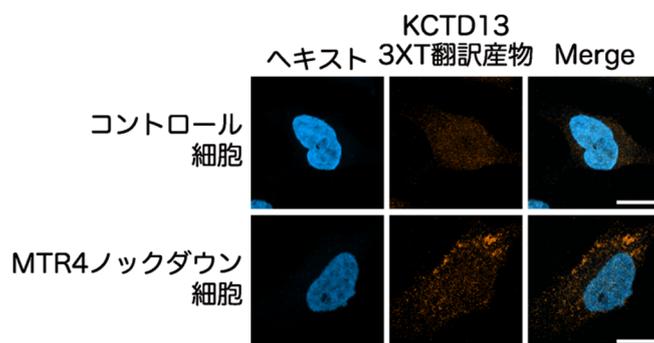


図 1 : KCTD13 3XT 翻訳産物は、MTR4 非存在下において KeXT body を形成する

発表内容

RNA プロセッシングは、キャップ構造の付加、スプライシング、ポリ A 付加など複数のプロセスによって、転写された RNA を成熟した mRNA に変換する過程です。これらの制御異常は、異常タンパク質の産生に繋がり、がんや神経疾患など、多くの疾患に関与することが知られています。一方、細胞には RNA が転写されて成熟 mRNA に変化するまでを管理する仕組み (Surveillance system) が存在しており、異常 RNA を識別して、適切に分解・排除しています。核内 RNA 分解機構は、RNA 分解を担当する RNA エキソソーム複合体 (注 9) と RNA 識別を担う RNA ヘリカーゼ MTR4 によって形成されており、主に転写直後の単独エキソン転写産物を分解することが知られていました。しかし、RNA プロセッシングの制御異常によって生じた複数のエキソンを持つ異常 RNA の分解機構は明らかになっていませんでした。

本研究グループはまず、RNA プロセッシングの破綻によって生じる異常 RNA の分解機構に着目し、従来の RNA シークエンスに加え、RNA 全長構造を可視化する direct RNA シークエンスとポリアデニル化部位を検出する 3' 末端シークエンス (注 10) を実施しました。結果、ポリアデニル化の脱制御により転写が途中で終結し、最終エキソンが 3' 側のイントロンまで伸長した異常 RNA である 3XT を MTR4 が分解していることを見出しました。

続いて本研究グループは、単独エキソンである mono-exon 3XT と、スプライシング制御を受け複数のエキソンを持つ multi-exon 3XT に 3XT を分類 (図 2) し、分解機構が明らかになっていない multi-exon 3XT に着目して研究を進めました。multi-exon 3XT の伸長領域 (3XR: 3' eXtended Region, 図 2) に対してモチーフ解析を行ったところ、hnRNPK が当該 3XR に結合している可能性を見出しました。そこで hnRNPK の発現を抑制すると、multi-exon 3XTs の発現が増加することを発見しました。本研究グループはさらに研究を進め、hnRNPK は multi-exon 3XT の 3XR に結合し、RNA エキソソーム-MTR4 複合体を当該 3XT にリクルートすることで、multi-exon 3XT を分解する仕組みを見出しました。

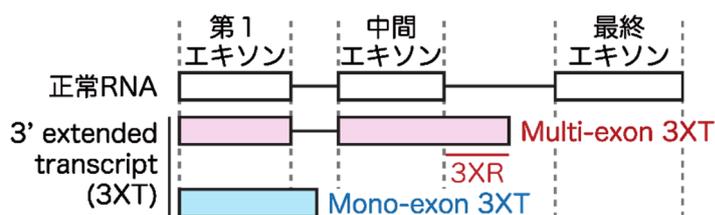


図 2 : 3XT 及び 3XR の定義

最後に、MTR4 によって制御される 3XTs から生成される異常な翻訳産物が異常構造体を形成するのかを調べました。まず構造体形成予測を行い、KCTD13 遺伝子座から発現する KCTD13 3XT 由来タンパク質が、相分離を起こす可能性を有するペプチド配列を有しており、構造体を形成する可能性を見出しました。そこで、KCTD13 3XT タンパク質に対する抗体を作成し、MTR4 を発現抑制したヒト子宮頸がん細胞株 HeLa 細胞における局在を確認したところ、KCTD13 3XT タンパク質が相分離制御を介して異常な病的構造体 KeXT body を形成することを見出しました。

これらの結果から、RNA プロセッシング異常を有する異常 RNA を分解することで、異常 RNA から翻訳されたタンパク質による病的構造体の形成を阻害する RNA 品質管理機構が存在していることが明らかとなりました。これは RNA 品質管理機構の破綻による病的構造体形成が様々な疾患を引き起こす可能性を示唆しており、様々な疾患に対する RNA 品質管理機構を標的にした治療法の発展に寄与することが期待されます。

発表者・研究者等情報

東京大学

アイソトープ総合センター

秋光 信佳 教授

谷上 賢瑞 特任准教授

Han Han 研究当時：博士課程

大学院新領域創成科学研究科

鈴木 穰 教授

関 真秀 特任准教授

早稲田大学

理工学術院

浜田 道昭 教授

曾 超 次席研究員（研究院講師）

論文情報

雑誌名：Nature Communications

題名：The MTR4/hnRNP complex surveils aberrant polyadenylated RNAs with multiple exons

著者名：Kenzui Taniue*, Anzu Sugawara, Chao Zeng, Han Han, Xinyue Gao, Yuki Shimoura, Atsuko Nakanishi Ozeki, Rena Onoguchi-Mizutani, Masahide Seki, Yutaka Suzuki, Michiaki Hamada, Nobuyoshi Akimitsu*

DOI: 10.1038/s41467-024-51981-8

URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-51981-8>

研究助成

本研究は、科研費「自然免疫応答を制御する長鎖非コード RNA に関する研究（課題番号：17KK0163）」、「リピート要素の de novo 発見に基づく長鎖ノンコーディング RNA の機能の解明（課題番号：20H00624）」、「核内 RNA ボディによるクロマチン制御と熱ストレス応答（課題番号：21H00243）」、「ヒト細胞における新しい物理化学的ストレス感知・応答機構の解明と癌治療

への応用（課題番号：21H04792）」、「lncRNA-RBP 複合体によるユビキチン-プロテアソーム制御機構（課題番号：21H02758）」、「RNA 品質管理機構によるイントロン-エクソン化 RNA 生成と癌維持機構への関与（課題番号：21K19402）」、「膵癌オルガノイドを用いた構造異常 RNA の探索と機能解析（課題番号：22KK0285）」、「先進ゲノム解析研究推進プラットフォーム（課題番号：22H04925）」、「Identification of repetitive elements involving genome regulation（課題番号：22K15093）」、「RNA を中心とした分子ネットワークに基づく生物学的相分離の俯瞰的・体系的な理解（課題番号：23H00509）」、「生殖ライフスパンにおける RNA キネティクス計測（課題番号：23H04955）」、AMED「機能解析に基づく RNA 標的創薬のための統合 DB と AI システムの構築（課題番号：JP21ae0121049）」、上原記念生命科学財団、武田科学振興財団、小林財団、MSD 生命科学財団、内藤記念科学振興財団、小野医学研究財団、ノバルティス科学振興財団の支援により実施されました。

用語解説

（注 1）MTR4

RNA ヘリカーゼ MTR4 (MTREX) は、核内に局在し、RNA エキソソームのアクセサリータンパク質として機能する。RNA 結合タンパク質と結合して様々な複合体を形成し、それぞれ特定の標的 RNA 群を識別する。また、MTR4 はスプライシング機構にも関与することが知られており、多機能タンパク質として様々な局面で機能することが知られている。

（注 2）hnRNPK

hnRNPK は、核に局在する DNA/RNA 結合タンパク質であり、様々な生物学的プロセスを制御する。hnRNPK の発現異常は、癌などの疾患の発症に関与する。hnRNPK は、RNA や一本鎖 DNA を認識する 3 つの KH ドメイン、核局在化シグナル、核シャトリングドメインを有しており、転写、mRNA スプライシング、RNA の輸送、翻訳などに関与することが知られているが、hnRNPK が核内 RNA 分解に関与していることは報告されていない。

（注 3）RNA プロセッシング

RNA プロセッシングとは、細胞内で合成された RNA 分子が機能的な成熟 RNA に変換される過程のこと。RNA ポリメラーゼ II による転写反応で前駆体 mRNA (pre-mRNA) が合成されると、5' 末端キャッピング、スプライシング、3' 末端プロセッシングなど様々なプロセッシング反応により成熟 mRNA となる。また、選択的 RNA スプライシングや選択的ポリ A 付加によって、遺伝子特異的かつ細胞型特異的に RNA アイソフォームを生成される。選択的 RNA スプライシングや選択的ポリ A 付加は、タンパク質多様性の獲得に寄与し、多様な生理的条件下で細胞プロセスを制御する上で重要な役割を果たしている。

（注 4）3XT (3' eXtended Transcript)

ポリアデニル化の脱制御により転写が途中で終結し、最終エクソンが 3' 側のイントロンまで伸長した異常 RNA のこと。3XT は本研究グループが発見し、第 1 エクソンが伸長した 3XT を mono-exon 3XT、2 つ目以降のエクソンが伸長した 3XT を multi-exon 3XT と命名した。従来のエクソンからイントロンまで伸長した領域を 3XR (3' eXtended Region) と命名した。図 2 参照。

(注 5) 相分離

相分離は、生物学において重要なプロセスであり、特定の条件下で細胞内の分子が自発的に分離し、異なる相 (phase) を形成する現象を指す。このプロセスによって細胞内の特定の区域に分子が集中し、高次構造体やゲルのような凝集体を形成することで、効率的な生化学反応や転写や翻訳などの調節機構を効果的に実行することが可能となる。近年、相分離が多くの生物学的過程において重要な役割を果たしていることが示されており、相分離の異常によってがんや神経変性疾患の発症に繋がる可能性が示唆されている。

(注 6) KeXT body (KCTD13 3eXtended Transcript-derived protein body)

KCTD13 遺伝子座から発現する KCTD13 3XT の翻訳産物が形成する異常構造体のこと。KeXT body は主に細胞質で構成されるが、その構成因子や機能についてはまだ不明である。

(注 7) ナノポアシーケンサー

細胞膜に存在するタンパク質を用いたナノスケールの孔 (ナノポア) を使って、DNA や RNA の塩基配列を直接読み取る技術を用いたシーケンサーのこと。ナノポアシーケンサーは、他のシーケンシング技術と比べて非常に長いリード (数万塩基に及ぶことも可能) を読み取ることができ、複雑なゲノム領域や構造変異、RNA の全長構造の解析などの解析が可能になる。また、DNA だけでなく、RNA も直接シーケンスできるため、転写後修飾の研究にも利用されている。

(注 8) direct RNA sequencing 技術

ナノポアシーケンシング技術による RNA 分子を直接シーケンスする技術のこと。RNA 分子がナノポアを通過する際に、各塩基 (A、U、C、G) の違いによって生じる電流の変化をリアルタイムで検出し、電流の変化パターンを解析することで、RNA の塩基配列が決定する。cDNA 合成や PCR 増幅などのステップを経ずに、RNA を直接シーケンスすることで、PCR バイアスや逆転写エラーを回避することが出来る。

(注 9) RNA エキソソーム複合体

RNA エキソソーム複合体は、真核細胞の核内で RNA の分解やプロセッシングに重要な役割を果たすタンパク質複合体のこと。RNA エキソソームは、9 つのタンパク質 (EXOSC1 - EXOSC9) から構成される RNA 分解活性を持たないエキソソームバレルと RNA 分解活性を有する DIS3 や EXOSC10 から成る。多くの RNA 分子を対象とし、主に不必要な RNA や異常な RNA の分解を行う。RNA エキソソーム複合体の制御異常は、がんや神経変性疾患の様々な疾患と関連することが知られている。

(注 10) 3' 末端シーケンス

3' 末端シーケンスは、RNA 分子の 3' 末端に付随するポリ (A) テールを利用して、遺伝子の転写物の末端部分を標識し、3' 末端部分をシーケンスする技術。主に、遺伝子発現解析や 3' UTR アイソフォームの存在量を測定するために用いられる。通常的全長 RNA-seq と比較して、解析に必要なリード数が少なく済むため、低コストでの発現解析が可能である。また、RNA 量が少なくても高感度かつ高精度に発現解析を行うことができるので、遺伝子発現解析、ポリ A テール解析、RNA 安定性解析に加え、シングルセル解析などにも応用されている。

問合せ先

(研究内容については発表者にお問合せください)

東京大学アイソトープ総合センター

教授 秋光 信佳 (あきみつ のぶよし)

Tel: 03-5841-2877 E-mail: akimitsu@ric.u-tokyo.ac.jp

東京大学アイソトープ総合センター 庶務係

Tel: 03-5841-2881 E-mail: syomu.ric@gs.mail.u-tokyo.ac.jp

早稲田大学 広報室広報課

Tel: 03-3202-5454 E-mail: koho@list.waseda.jp