

RNA 修飾の生物学的な役割の解明

生命の発生や細胞の分化、複雑な精神活動に代表される高次生命現象は、遺伝子発現の微調節によって生じている。また、これら調節機構の破綻が、様々な疾患の原因になることが知られている。したがって、遺伝子発現の調節機構を明らかにすることは、生命活動や生命現象を理解することだけでなく、医療や創薬などの応用研究にも貢献すると期待される。RNAは、DNAにコードされた遺伝情報をタンパク質へと変換する過程を仲介する分子として、その役割が知られているが、近年の研究で、RNAは遺伝子発現を転写や翻訳の各段階で調節することで様々な生命現象に関わることが次第に明らかになりつつある。RNAの構造的な特徴として、転写後に塩基やリボース部位に付加される修飾が挙げられる。現在までに、140種類を超えるRNA修飾が報告されており、これらの修飾はあらゆるRNAに普遍的に存在し、RNAが機能する上で欠くことのできない重要な質的情報である。こうしたRNAの質的情報を精確に捉えることは、RNAが関与する高次生命現象の理解や疾患との関連性を明らかにするために避けて通ることのできない重要な研究対象である。

世界的なRNA研究の潮流は、その配列情報と発現量を解析することに興味が集積しており、ゲノム配列が整備されたことに加え、マイクロアレイ技術や次世代シーケンサーの登場により、RNAを「配列情報」として捉えるトランスクリプトーム研究がますます加速している。しかし、RNAには複雑な修飾や末端構造などの質的情報が含まれており、RNAを単に「配列情報」として捉える従来型の研究手法では、これらの質的情報を引き出すことはできない。私たちは、こうしたRNAの質的情報を精確に捉えるために、独自のアイデアに基づき、RNAを単離し、直接解析するというRNAを「もの」として捉える方法論を確立した。具体的には生体内の微量RNAを単離精製するための新しい手法(チャプレットクロマトグラフィー法、往復循環クロマトグラフィー法)を考案し、RNAを全自動で精製する装置を開発した。また、精製したRNAを高感度で質量分析する革新的な基盤技術であるRNAマスペクトロメトリーを確立した。実際に、これらの手法を駆使することで、様々な生物から各種RNAを単離し、その修飾構造の解析に成功している。

RNA修飾の機能を正しく理解するためには、修飾部位の精確なマッピングが不可欠である。mRNA上に生じるRNA修飾のマッピング法として、抗RNA修飾抗体を用い、免疫沈降によって濃縮されたRNA断片をcDNA化し、次世代シーケンサー(NGS)で解析する方法が主流である。しかし、この手法は抗体の特異性に問題があり、分解

能の低さから、一塩基レベルでのマッピングが困難であるなど、数々の問題が指摘されている。私たちはこうした問題を克服するために、イノシン特異的な化学修飾と逆転写反応を組み合わせた生化学的なイノシン修飾部位の同定法(Inosine chemical erasing, ICE法)を開発した。さらにICE法をNGS解析に適用したICE-seqを開発し、ヒト成人脳のトランスクリプトームにおいて、2万か所以上の新規イノシン化部位を特定した。この手法はイノシン修飾を生化学的に同定する優れた手法として高く評価されている。ICE-seq法は逆転写反応の阻害(RT stop signature)という原理を、NGSによるRNA修飾解析に持ち込んだ初めての例であり、その後、この概念が他のRNA修飾の同定にも広く利用されるようになった。

さらに私たちは、RNA修飾の生合成遺伝子を網羅的に探索するための方法論であるリボヌクレオーム解析法を開発し、これまでに様々な生物種の機能未知遺伝子群より40種類を超える新規RNA修飾遺伝子を同定し報告している。またこれらの遺伝子に関して、遺伝学、生化学、構造生物学を駆使したRNA修飾の生理学的な機能および生合成機構について、多くの成果を報告している。最近の業績として、ヒトミトコンドリアの変則暗号解読を司る5-ホルミルシチジン(f^5C)修飾の生合成および生理的機能を明らかにした成果などが挙げられる。

これまでに私たちは、7種類の新規RNA修飾体を発見し、その化学構造を報告している。最近の業績として、棘皮動物のミトコンドリア tRNA から見つかった hydroxy- N^6 -threonylcarbamoyladenosine (ht^6A)が挙げられる。 ht^6A は tRNA のコドン認識の厳密性に寄与することを明らかにし、変則暗号の成立に関与したと考えられる。さらに、Pre-tRNA capping というこれまでの分子生物学の常識を覆す新しい概念を見出している。通常、キャップ構造は RNA ポリメラーゼ II の転写と共役して導入されるため、mRNA の 5'末端に特異的に付加される修飾であることが知られている。しかし、私たちは tRNA 前駆体(Pre-tRNA)の 5'末端にこの構造を発見した。tRNA は RNA ポリメラーゼ III の転写産物であり、この発見は、これまでの常識を覆す知見となった。また遺伝学的な解析から、Pre-tRNA capping は、pre-tRNA を 5'エキソヌクレアーゼによる分解から保護している役割があることを明らかにしている。

RNA 修飾の機能を明らかにした成果として特筆すべきは、リボソームの生合成に関する研究である。私たちはリボソームの 50S サブユニットが組みあがる過程において、23S rRNA に含まれるたった一か所のメチル化修飾(Um2552)が決定的な役割を担っていることを見出した。実際に、試験管内で 45S 前駆体にメチル化酵素(RlmE)を作用させることにより、50S サブユニットが生じることを示している。この知見は、ア

ッセンブリー因子の酵素活性によってリボソーム生合成の一部を再現した初めての研究成果である。