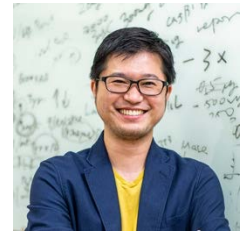


## 岩崎RNAシステム生化学研究室

主任研究員 岩崎 信太郎 (Ph.D.)



### (0) 研究分野

分科会: 生物

キーワード: 翻訳、RNA、翻訳阻害剤、RNA結合タンパク質、次世代シーケンサー

### (1) 研究背景と研究目標

生物の最も基本的な原理はDNAからRNA(転写)がつくられ、RNAからタンパク質(翻訳)がつくられるという「分子生物学のセントラルドグマ」である。最近の研究によりRNAの量とタンパク質の量は単純に比例するわけではなく、「翻訳」段階で多くの制御を受け最終的に産生するタンパク質量を緻密に制御していることが分かってきた。本研究室では次世代シーケンサーを使った網羅的解析と古典的生化学の手法を組み合わせ、生物の基本原理たる「翻訳」の詳細な理解に挑戦している。特に、細胞内の翻訳を網羅的に計測する技術としてribosome profiling法がある。この手法を基盤に、広く生物応用し、多様な生命現象で生じる多彩な翻訳制御を理解したい。

### (2) 2023年度成果と今後の研究計画(中長期計画2025年度まで)

#### ホウ酸を介した翻訳制御

植物は細胞質内のホウ素濃度を感知し、ホウ素を吸収するトランスポーターの蓄積を増加させるために、特定のタンパク質の合成を調節する。土壌からのホウ素吸収を担うホウ酸トランスポーターNIP5;1は、その重要な担い手である。NIP5;1の翻訳は、ホウ酸濃度によって厳密に制御されるが、このとき5' UTR中の開始コドンと終止コドンのみからなる最小uORF (AUG-UAA、以下AUG-stopと略す)が重要な役割をはたす。しかし、細胞質内のホウ素濃度の上昇が翻訳過程にどのような影響を与えるのか、その分子メカニズムは明らかではなかった。

NIP5;1最小uORFによる翻訳制御を理解するために、*in vitro*翻訳システム中で翻訳されるレポーターmRNAにリボソームプロファイリング(または80Sフットプリンティング)、およびTCP-Seq(または40Sフットプリンティング)を応用した。これらの解析から、ホウ酸がAUG-stop上で80Sリボソームを停止させ、下流のメインORFへのリボソーム供給を減少させることが明らかになった。一方、ホウ酸が制限された条件下では、AUG-stopに集合した80Sリボソームは下流RNA領域に「スライド」し、主要ORFの開始コドンから翻訳を再開することが明らかになった。この結果は、80Sリボソームのスライディングが発現調節機構に機能的に関与していることを示す初めての例となった。また、AUG-stop上で停止した80Sのクライオ電子顕微鏡構造も解明した。この成果は、理研BDRの伊藤研究室との共同研究であり、Nature Chemical Biology誌に掲載された(Tanaka, Yokoyama, Saito *et al.* Nat Chem Biol 2024)。

#### 翻訳ノックダウン法の開発

近年、CRISPR-Casと呼ばれる細菌免疫に関わるシステムが注目されている。最近、このシステムの一部としてCas13と呼ばれるタンパク質が発見された。Cas13は、ガイドRNAと呼ばれる短いRNAと結合すると、その配列に相補的なRNAを特異的に認識して切断する酵素である。したがって、Cas13はRNA干渉よりも特異的なノックダウン効果を発揮すると期待された。しかし、Cas13はいったん標的RNAに結合すると、その近傍のRNAを非特異的に切断するため、Cas13を用いて特異的な遺伝子ノックダウンを行うことは困難である。

我々は、RNA結合におけるCas13の高い特異性を利用して、RNA分解ではなく翻訳阻害を引き起こす新しい方法、CRISPR $\delta$  (CRISPR delta、 $\delta$ はDEpLetion of Translation by blockAdeの略)を開発した。RNA切断活性を失ったCas13変異体(dead Cas13またはdCas13)は、mRNA上に強固に結合し、開始コドンへの走査リボソームのアクセスを妨害することで、標的mRNAからのタンパク質合成を阻害する。リボソームプロファイリングから、CRISPR $\delta$ はmRNA特異性が非常に高いことが示された。この研究成果は、Nature Communications誌に掲載された(Apostolopoulos *et al.* Nat Commun 2024)。

### 今後の研究計画

リボソームプロファイリングは、翻訳制御を理解するための強力な手法である。しかし同時に、感度、分解能、スループット、データ解析など、この手法には技術的なハードルも存在する。私たちは、このような分析上の難関を突破すべく、積極的な新技術開発に取り組んでいる。

### (3) 研究室メンバー

(主任研究員)

岩崎信太郎

(研究員/無期)

七野悠一

(学振特別研究員PD)

藤博貴

河本尚大

(訪問研究員)

韓佩恂

(テクニカルスタッフ I)

水戸麻理

(2023年度)

(大学院生リサーチ・アソシエイト)

斉藤大寛

(理研スチューデント・リサーチャー M)

戸室幸太郎

(研修生)

脇川大誠

塚田遊磨

(特別嘱託職員)

横山理恵

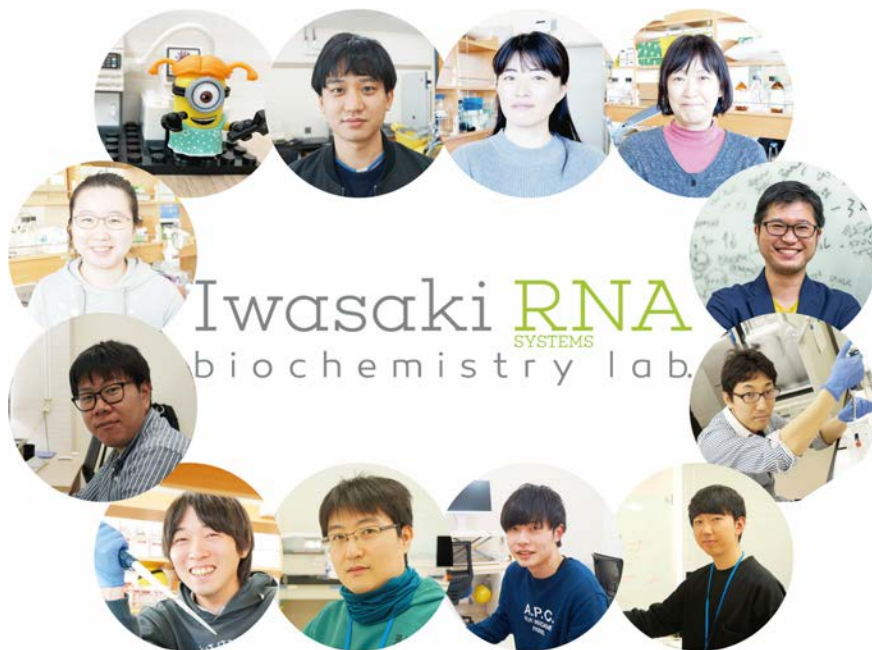
(事務パートタイマー I)

綱島美穂

### (4) 発表論文等

1. Apostolopoulos A, Kawamoto N, Chow SYA, Tsuiji H, Ikeuchi Y, Shichino Y\*, and **Iwasaki S\***. dCas13-mediated translational repression for accurate gene silencing in mammalian cells. *Nat Commun.* 15(1):2205 (2024) DOI: 10.1038/s41467-024-46412-7
2. Tanaka M<sup>#</sup>, Yokoyama T<sup>#</sup>, Saito H<sup>#</sup>, Nishimoto M, Tsuda K, Sotta N, Shigematsu H, Shirouzu M, **Iwasaki S\***, Ito T\*, and Fujiwara T\*. Boric acid intercepts 80S ribosome migration from AUG-stop by stabilizing eRF1. *Nat Chem Biol.* (2024) DOI: 10.1038/s41589-023-01513-0
3. Teyssonniere EM<sup>#</sup>, Shichino Y<sup>#</sup>, Mito M, Friedrich A, **Iwasaki S\***, and Schacherer J\*. Translation variation across genetic backgrounds reveals a post-transcriptional buffering signature in yeast. *Nucleic Acids Res.* 52(5):2434-2445 (2024) DOI: 10.1093/nar/gkae030
4. Zhao X<sup>#</sup>, Ma D<sup>#</sup>, Ishiguro K<sup>#</sup>, Saito H, Akichika S, Matsuzawa I, Mito M, Irie T, Ishibashi K, Wakabayashi K, Sakaguchi Y, Yokoyama T, Mishima Y, Shirouzu M, **Iwasaki S**, Suzuki Ta\*, and Suzuki Ts\*. Glycosylated queuosines in tRNAs optimize translational rate and post-embryonic growth. *Cell.* 186(25):5517-5535.e24 (2023) DOI: 10.1016/j.cell.2023.10.026
5. Nagao A\*, Nakanishi Y, Yamaguchi Y, Mishina Y, Karoji M, Toya T, Fujita T, **Iwasaki S**, Miyauchi K, Sakaguchi Y, and Suzuki T\*. Quality control of protein synthesis in the early elongation stage. *Nat Commun.* 14(1):2704 (2023) DOI: 10.1038/s41467-023-38077-5

### Supplementary



**Laboratory Homepage**

[https://www.riken.jp/research/labs/chief/rna\\_sys\\_biochem/index.html](https://www.riken.jp/research/labs/chief/rna_sys_biochem/index.html)

<http://iwasakirna.com/ja/>