

メッセンジャーRNA が短くなり動物が産まれる

～受精後の発生の仕組み解明に期待～

ポイント

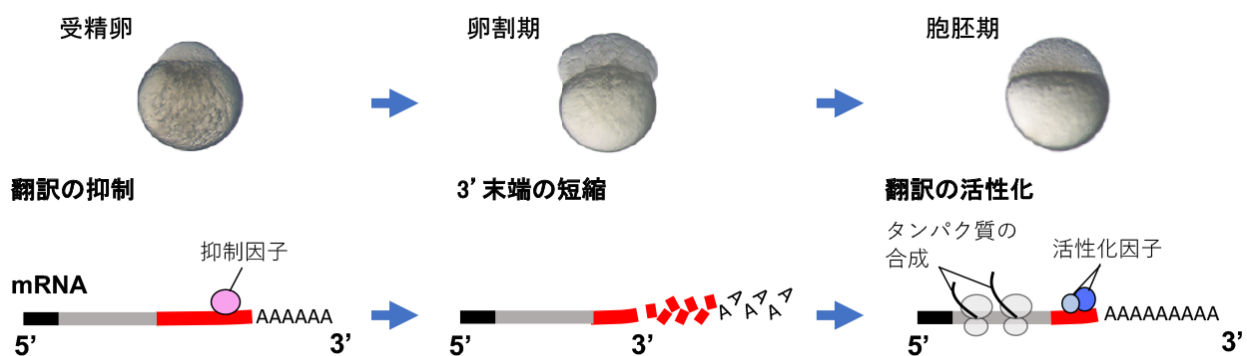
- ・受精後の胚で、メッセンジャーRNA (mRNA) が部分的に短くなることを発見。
- ・ mRNA の短縮はタンパク質の合成を促進し、動物の発生に必須であることを解明。
- ・受精卵がどのように発生を進行し個体が産まれるのか、仕組みの解明と生殖医療の進展に期待。

概要

北海道大学大学院理学研究院の小谷友也准教授らの研究グループは、慶應義塾大学医学部医化学教室の山本雄広専任講師と共同で、成熟 mRNA が短くなることを発見し、動物が産まれてくるための新たな仕組みを解明しました。

細胞の核で転写された mRNA は細胞質に運ばれる前に長さや配列が決定され、成熟 mRNA となります。成熟した mRNA は、長さを変えることはないと考えられてきました。また、動物の受精卵は発生を進めるために mRNA からタンパク質を合成しますが、その場所と時期は厳密にコントロールされる必要があると考えられています。研究グループは、動物の受精卵に蓄えられた mRNA が発生のある時期に部分的に短くなることを発見しました。具体的には、ゼブラフィッシュの *pou5f3* mRNA とマウスの *Pou5f1* mRNA の 3' 側末端の配列が、それぞれ約 70 塩基と約 10 塩基短くなることを見出しました。次に、長い mRNA は翻訳を抑制されてタンパク質を合成しないこと、短縮された mRNA は翻訳を活性化しタンパク質を合成することを示しました。さらに、mRNA の短縮を阻害した胚では翻訳は活性化せず、その後、頭部から尾部までが極めて短い胚となり発生を停止することを明らかにしました。網羅的な解析と抗体を用いた機能解析から、mRNA の短縮は結合するタンパク質を入れ替える分子スイッチとして働くことが示されました。最後に、受精卵が持つ mRNA の約 5% に相当する 568 種類の mRNA においてその長さの変化を解析し、40% 以上の mRNA で短縮が起こることを示しました。本研究によって、受精卵が発生を進行するための極めて重要な原理を見出すことに成功しました。

なお、本研究成果は、2023 年 11 月 24 日（金）公開の Science Advances 誌に掲載されました。



mRNA の短縮とタンパク質の合成・発生の進行。受精卵において *pou5f3* mRNA は不活性な状態で存在し、タンパク質を合成しない（翻訳の抑制）。受精後に mRNA は短くなり（3' 末端の短縮）、タンパク質を合成する（翻訳の活性化）。合成されたタンパク質は、発生を進行させる。

【背景】

私たちヒトを含め多くの動物は、卵と精子が受精した一つの細胞から生まれてきます。受精卵は発生を進めて一人の（一匹の）個体を作るために、たくさんの複雑な過程を間違いなく進行する必要があります。この発生過程を進行するため、受精卵は数千種類の不活性な（翻訳を抑制された）mRNAを蓄えており、それぞれのmRNAを必要な時期に必要な場所で活性化しタンパク質を合成します。しかし、それぞれのmRNAがどのように不活性化され卵に蓄えられるのか、どのような仕組みで必要な時期に必要な場所で活性化されるのかはほとんど分かっていません。

一方で、真核生物の細胞において、核で転写されたメッセンジャーRNA（mRNA）は細胞質に運ばれる前に長さや配列が決定され、成熟mRNAとなることが知られています。この成熟mRNAの長さや配列は変化しないと考えられてきました。

【研究手法と成果】

研究グループは、小型魚類のゼブラフィッシュと哺乳類のマウスをモデル動物として用い、動物の発生に重要な転写因子を合成する *pou5f3* mRNA と *Pou5f1* mRNA について研究してきました。我々の以前の研究から、これら mRNA は受精前の卵で不活性な状態で存在することが分かっていました。本研究では初めに、これら mRNA が受精後にどのように活性化するかを探るため、mRNA の 3'末端の変化を解析しました。成熟 mRNA の 3'末端には RNA を構成する塩基の一つ、アデニン(A)が連続して付加されます。これをポリ(A)鎖とよび、その長さが伸びることで翻訳が活性化する現象が知られていました（図1）。今回全く予想していなかった結果として、*pou5f3* mRNA と *Pou5f1* mRNA の 3'末端は、活性化する（翻訳される）直前に短くなることを見出されました。ポリ(A)鎖は短くなった mRNA において伸長していました（図1）。

mRNA が短くなることと翻訳の活性化の関係を探るため、外来遺伝子の導入^{*1}・ゲノム編集^{*2}・レポーターmRNA^{*3}を用いた解析を行いました。これら3つの解析は全て、短縮前の長い mRNA は翻訳を抑制され、短縮後の mRNA は翻訳を活性化することを示しました。次に、*pou5f3* mRNA の短縮を特異的に阻害する実験を行いました。3'末端の配列に相補的なモルフォリノ・オリゴヌクレオチド^{*4}を受精卵に微量注入し mRNA の短縮を阻害した胚は、Pou5f3 タンパク質を合成できず、頭部から尾部までが極めて短い胚となりました（図2）。このことから、胚は mRNA を短縮することでタンパク質の合成を開始し、発生を進行することが明らかとなりました。

次に、mRNA が短くなることでどのように翻訳が活性化するかを明らかにするため、mRNA に結合するタンパク質の同定を試みました。試験管での結合反応から、長い mRNA と短い mRNA に結合する候補タンパク質を約 400 種類同定しました（図3）。この中で、長い mRNA に結合する hnRNP D タンパク質と、短い mRNA に結合する Gemin5、Dhx9 タンパク質に注目し、解析を続けました。特異的抗体を作製し *Pou5f1* mRNA との結合を確認した後に、それぞれのタンパク質をノックダウンし、Pou5f1 タンパク質の発現を解析しました。興味深いことに、hnRNP D は Pou5f1 の発現を抑制し、Gemin5 と Dhx9 は Pou5f1 の発現を促進することが分かりました（図3）。このことから、mRNA の短縮は分子スイッチとして働き結合するタンパク質を変化させること、この変化が翻訳の活性を調整すると考えられました。

最後に、受精卵が持つ全 mRNA の約 5%にあたる、568 種類の mRNA について、その 3'末端配列の変化を解析しました。その結果、255 種類の mRNA（44.9%）において受精後の卵割期に 3'末端配列が短くなることを明らかにしました。このことから、mRNA の短縮による翻訳の活性化と発生の進行は多くの mRNA に共通する分子機構であると推測されます。

本研究は、成熟 mRNA の長さが短くなるという、今までに見出されていなかった現象を発見し、この現象が動物の発生を進行させる重要な原理であることを解き明かしました。ゼブラフィッシュとマウスを用いてもたらされた本知見は、ヒトを含めた多くの生物に共通の原理だと期待されます。

【今後への期待】

研究技術の進歩によって、動物の受精卵は 10,000 種類程度の mRNA を持つことが明らかとなりました。さらに、この中の 2,000~4,000 種類の mRNA は発生過程の決められた時期に翻訳されることも見えてきました。しかし、個々の mRNA の翻訳がどのようにコントロールされているのかはまだまだ分かっていません。本研究成果は、発生の進行に重要な個々の mRNA がどのように制御され、必要な時期に必要な場所でタンパク質を合成するのか、その仕組みの解明に多大な貢献を果たすと期待されます。また、動物がどのように産まれてくるのかを解明することで、畜産動物の出生率の上昇・ヒトの生殖医療の進展につながることを期待されます。

【謝辞】

本研究は、JSPS 科研費 (JP16K07242、JP21H02398)、持田記念医学薬学研究助成金、九州大学生体防御医学研究所共同研究プロジェクトの支援のもと実施されました。

論文情報

論文名	Mature mRNA processing that deletes 3' end sequences directs translational activation and embryonic development (3'末端の配列を欠損させる成熟 mRNA のプロセッシングは翻訳活性化と胚発生を進行する)
著者名	高田裕貴 ^{1,2} 、Fierro Ludivine ¹ 、佐藤圭祐 ¹ 、眞田崇弘 ¹ 、石井晏和 ¹ 、山本雄広 ³ 、小谷友也 ^{1,2} (¹ 北海道大学大学院生命科学院、 ² 北海道大学大学院理学研究院、 ³ 慶應義塾大学医学部)
雑誌名	Science Advances
DOI	10.1126/sciadv.adg6532
公表日	2023年11月24日(金)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院理学研究院 准教授 小谷友也 (こたにともや)

T E L 011-706-4455 F A X 011-706-4455 メール tkotani@sci.hokudai.ac.jp

U R L <http://rep-dev.s2.weblife.me/index.html>

慶應義塾大学医学部医化学教室 専任講師 山本雄広 (やまもとたけひろ)

メール take-y@keio.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課：飯塚・奈良・岸 (〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35)

T E L 03-5363-3611 F A X 03-5363-3612 メール med-koho@adst.keio.ac.jp

【参考図】

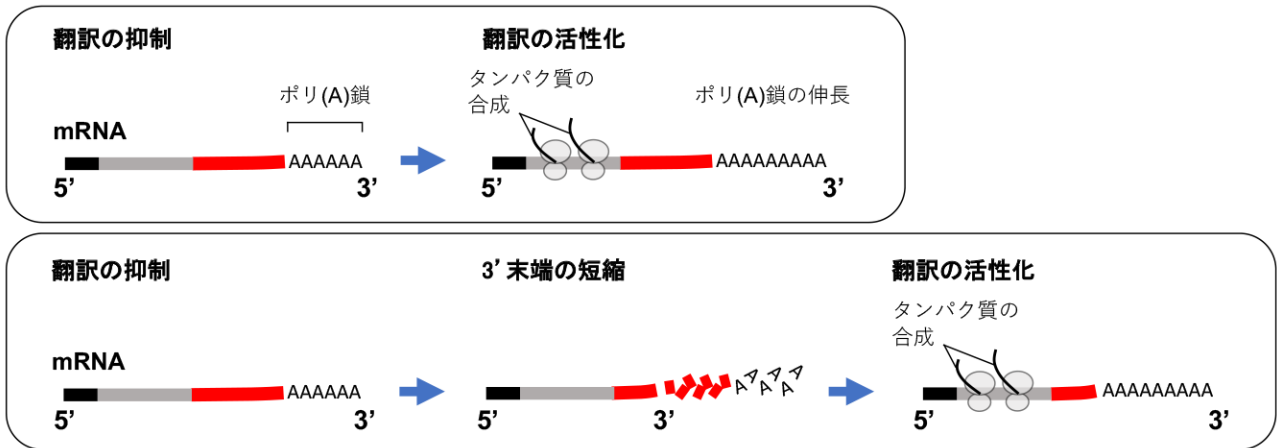


図 1. 翻訳の抑制と活性化の仕組み。上の模式図は、現在までに知られる翻訳活性化のモデルを示す。mRNA の 3'末端に付加されたポリ(A)鎖が伸長することで、翻訳が活性化しタンパク質を合成する。下の模式図は、本研究で明らかとなった翻訳活性化のモデルを示す。ポリ(A)鎖と 3'末端の配列が削られ、その後にポリ(A)鎖が伸長する。

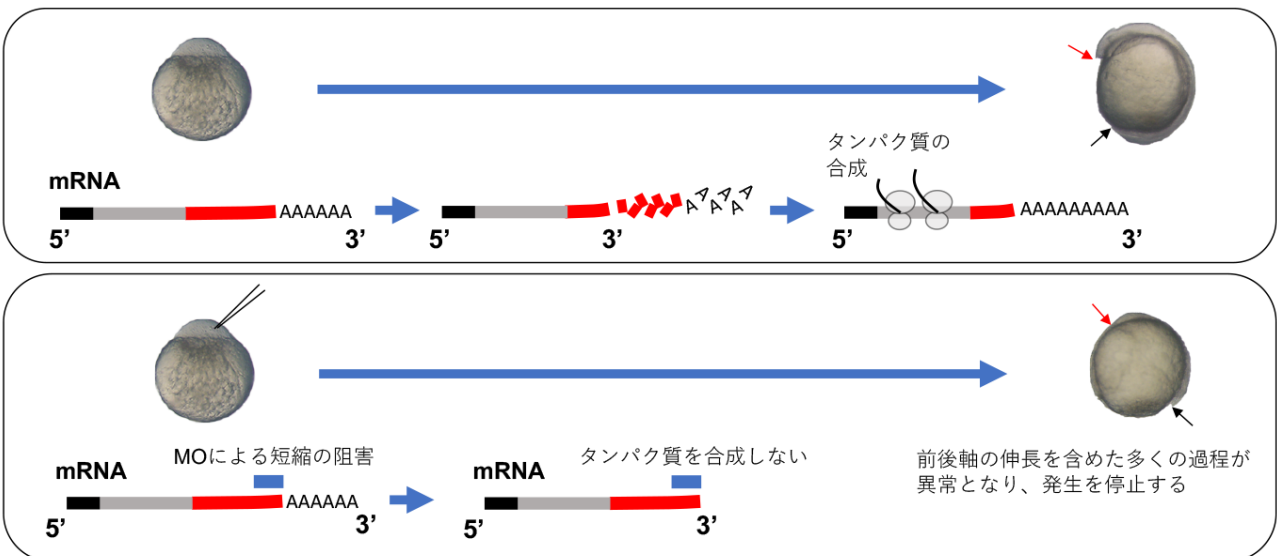


図 2. mRNA の短縮を阻害するとタンパク質が合成されず、頭部から尾部までが短い胚となり発生が停止する。上の図は、何も操作をしない受精卵でのタンパク質合成と胚発生を示す。下の図は、モルフォリノ・オリゴヌクレオチド (MO) によって mRNA の短縮を阻害した胚でのタンパク質合成と胚発生を示す。矢印は頭部の先端 (赤) と尾部の先端 (黒) を示す。

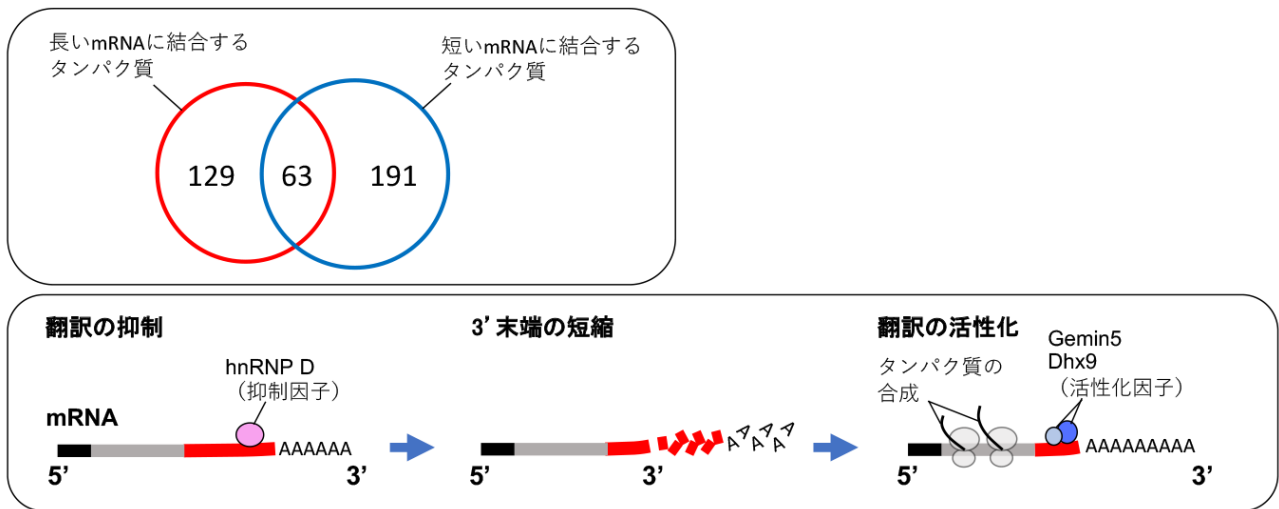


図 3. mRNA に結合するタンパク質の探索と翻訳制御における役割のモデル。上の図は、長い mRNA (赤い円) と短い mRNA (青い円) に結合するタンパク質の数を示す。下の模式図は、長い mRNA に結合する hnRNP D タンパク質と、短い mRNA に結合する Gemin5、Dhx9 タンパク質の結合と役割のモデルを示す。

【用語解説】

- *1 外来遺伝子の導入 … 細胞の染色体に人為的に編集した遺伝子配列を挿入すること。
- *2 ゲノム編集 … 染色体の配列の一部をガイド RNA と Cas9 酵素で切断し、修復時にランダムに起こる変異を導入すること。
- *3 レポーターmRNA … タグを付加したタンパク質等を発現する mRNA のこと。細胞に導入し、タンパク質の発現を解析するために用いられる。
- *4 モルフォリノ・オリゴヌクレオチド … mRNA の一部の配列に相補的な配列を持つ合成 DNA のこと。モルフォリン環を持つオリゴヌクレオチドを用い、安定性と特異性、細胞毒性が改善されている。