

## 固相の RNA 分子倉庫が液相のタンパク質合成工場に

～細胞が必要な時期に必要なタンパク質を合成する新たな仕組みを解明～

### ポイント

- ・動物の受精卵で RNA 分子の倉庫となる顆粒状構造を発見。
- ・受精卵の RNA 分子倉庫は固相の特徴を持ち、卵割が進むと液相に状態が変化。
- ・液相の RNA 顆粒は、発生に必要なタンパク質を活発に合成。

### 概要

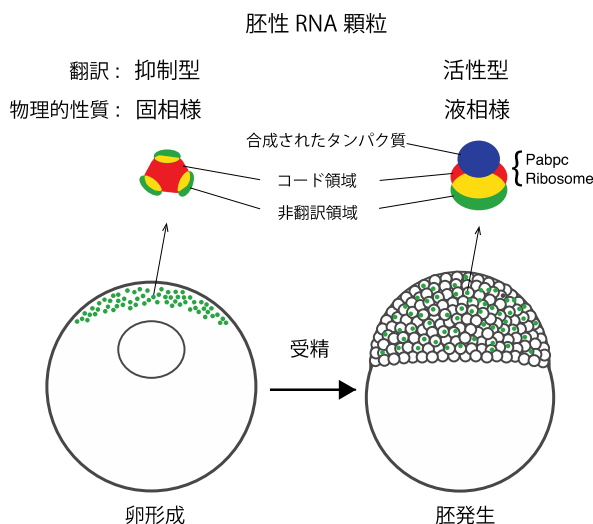
北海道大学大学院理学研究院の小谷友也准教授らの研究グループは、動物の胚において発生に必要なタンパク質を合成する新たな仕組みを解明しました。

ほぼ全ての動物は、受精後に様々なタンパク質を新たに合成し、発生を進めます。受精直後の一定の時期は、受精卵にあらかじめ保存された mRNA から全てのタンパク質が合成されます。しかし、これら mRNA はどのように保存され、どのように必要な時期にタンパク質を合成するのか、よく分かっていません。

本研究では、小型魚類のゼブラフィッシュを用い、mRNA 分子の倉庫として働く顆粒状構造を受精卵に発見しました。これら RNA 分子は固体状（固相）の特徴を持ちましたが、受精後に 3 時間たった胚では液体状（液相）の特徴に変化しました。固相状態の顆粒では mRNA からタンパク質は合成されていませんでしたが、液相に変化した顆粒では mRNA からタンパク質が活発に合成されていました。液相の mRNA 顆粒を拡散させると、mRNA のタンパク質合成が検出できなくなりました。このことから、液相様の顆粒構造はタンパク質の合成工場として働くことが示されました。同様の仕組みは、マウス胚においても存在することが示唆されました。

タンパク質の合成は、全ての生命現象の進行に重要です。本研究で明らかとなったタンパク質合成を調整する仕組みは、さまざまな生命現象の進行を支えている可能性があります。

なお、本研究成果は、2022 年 6 月 17 日（金）公開の iScience 誌にオンライン掲載されました。



胚性 RNA 顆粒（上）とゼブラフィッシュ卵母細胞・卵割期胚（下）。卵母細胞において、胚性 RNA 顆粒は翻訳を抑制された mRNA の倉庫として働く（左）が、卵割期にはタンパク質合成の工場として働く（右）。その役割の変換には固相状態から液相状態への相転換を伴う。

## 【背景】

私たちヒトを含めた全ての動物は、卵と精子が受精した後に、必要な時期に必要なタンパク質を合成して生まれてきます。受精直後の胚は、あらかじめ卵子に蓄えた mRNA から多くのタンパク質を合成します。合成されたタンパク質は、卵割や胚軸の形成、細胞分化を進めます。あらかじめ卵子に蓄えた mRNA のタンパク質合成を阻害したとき、反対に、合成時期を早めたとき、どちらにおいても胚は発生を途中で止めてしまいます。このように、受精後に卵子に蓄えられた mRNA から必要な時期にタンパク質を合成する仕組みは、動物の胚発生に極めて重要です。しかし、その分子機構はほとんどわかっていません。

## 【研究手法・成果】

研究グループはゼブラフィッシュを用い、*pou5f3* mRNA の制御機構を解析することで、受精後にタンパク質が合成される分子機構の一端を解明しました。*pou5f3* mRNA は、今までに研究されてきた全ての動物で発生の進行に欠かすことのできない転写因子をコードします。研究グループは初めにゼブラフィッシュの Pou5f3 タンパク質に対する抗体を作製し、このタンパク質が受精後の卵割期にはじめて合成されることを明らかにしました。卵母細胞と受精卵における *pou5f3* mRNA の存在を、高感度の蛍光 *in situ* hybridization 法で検出した結果、翻訳を抑制された mRNA は顆粒状構造をとり細胞質に蓄積されることを見出しました (図 1; 0 時間)。興味深いことに、タンパク質合成が活発となる卵割期以降においても *pou5f3* mRNA の顆粒状構造は維持されました (図 1; 1.5 時間、3 時間、6 時間)。

卵割期において Pou5f3 タンパク質が合成される場所を、Ribopuromylation 法<sup>\*1</sup>と Puro-PLA 法<sup>\*2</sup>と呼ばれる手法で検出しました。その結果、新規に合成される Pou5f3 タンパク質は mRNA の顆粒構造と重なって検出されました (図 2)。さらに、リボソームタンパク質<sup>\*3</sup>と翻訳の活性化に働くポリ A 結合タンパク質<sup>\*4</sup>を染色した結果、これらは *pou5f3* の RNA 顆粒と共局在しました。以上の結果から、Pou5f3 タンパク質は *pou5f3* mRNA の顆粒状構造の内部で合成されることが示されました。

*pou5f3* の RNA 顆粒は、受精卵でタンパク質を合成しない RNA 分子の倉庫として働きます。一方で、卵割期にはタンパク質を活発に合成する工場として働きます。この違いが生じる仕組みを探るため、RNA 顆粒の性質を調べました。その結果、受精卵の RNA 顆粒は固体状 (固相) の性質を示し、卵割期の RNA 顆粒は液体状 (液相) の性質を示しました。さらに、卵割期の RNA 顆粒を拡散させた結果、Pou5f3 タンパク質の合成が検出されなくなりました。

以上の結果から、胚性 RNA 顆粒と名付けられた mRNA の顆粒状構造は固相の状態では RNA 分子を保存し、液相の状態に変化することで mRNA からタンパク質を活発に合成すると考えられます。また、マウス胚においても mRNA の顆粒状構造が検出されており、胚性 RNA 顆粒によるタンパク質合成の制御機構は多くの生物で保存されている可能性が示されました。

## 【今後への期待】

近年の研究から、細胞が持つ mRNA のすべてが常にタンパク質を合成しているわけではなく、多くの mRNA が細胞質内で不活性な状態で維持されることが明らかとなってきました。本研究で得られた成果は動物の胚のみでなく、様々な細胞で生命現象を進行される重要な機構として働いている可能性があります。また、生体内分子が固相状態から液相状態に変化することで活性を持つことは、本研究で得られた新たな発見です。本研究成果は、生体内分子の活性制御においても新たな視点を提供します。

## 【謝辞】

本研究は、広島大学の安田恭大助教との共同研究で、日本学術振興会科学研究費助成事業(16K07242、19K22376、21H02398、JP16H06280)、北海道大学ニコン・イメージングセンターの支援のもと実施されました。

## 論文情報

論文名 Identification of embryonic RNA granules that act as sites of mRNA translation after changing their physical properties (物理的な特性を変化させたのちに mRNA の翻訳の場として働く胚性 RNA 顆粒の同定)

著者名 佐藤圭祐<sup>1</sup>、酒井萌子<sup>1</sup>、石井晏和<sup>1</sup>、前畑香織<sup>1</sup>、高田裕貴<sup>1</sup>、安田恭大<sup>2</sup>、小谷友也<sup>1,3</sup>  
(<sup>1</sup>北海道大学大学院生命科学院、<sup>2</sup>広島大学大学院統合生命科学研究科、<sup>3</sup>北海道大学大学院理学研究院)

雑誌名 iScience (生命科学・物理科学・地球科学の総合誌)

D O I 10.1016/j.isci.2022.104344

公表日 2022年6月17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](mailto:tkotani@sci.hokudai.ac.jp)

U R L [rep-dev.s2.weblife.me/index.html](http://rep-dev.s2.weblife.me/index.html)

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 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](mailto:jp-press@general.hokudai.ac.jp)

【参考図】

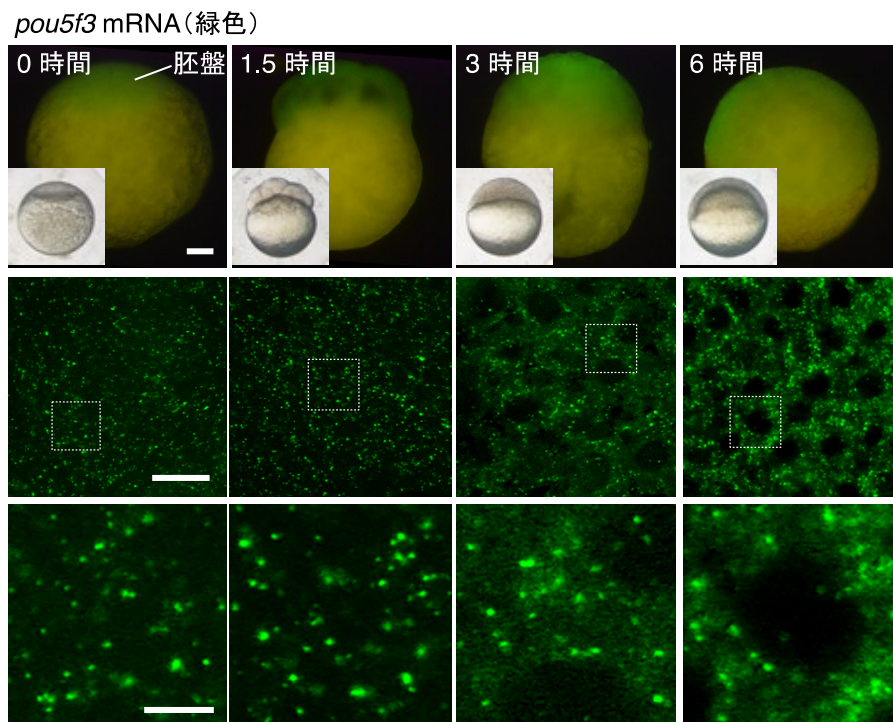


図 1. ゼブラフィッシュ受精卵と胚発生における *pou5f3* mRNA の分布様式。上段に挿入された写真は胚の明視野の写真。ゼブラフィッシュ受精卵は、受精後に細胞質を動物極に集積させる。この領域は胚盤と呼ばれ、卵割はこの領域で進行する。(上段) 受精卵と胚の蛍光実体顕微鏡像。(中段・下段) 受精卵とそれぞれの胚における共焦点顕微鏡像。*pou5f3* mRNA は受精卵と卵割期胚の細胞質において、常に顆粒状構造として検出された。スケールバーはそれぞれ (上段) 100  $\mu\text{m}$ 、(中段) 20  $\mu\text{m}$ 、(下段) 5  $\mu\text{m}$  を示す。

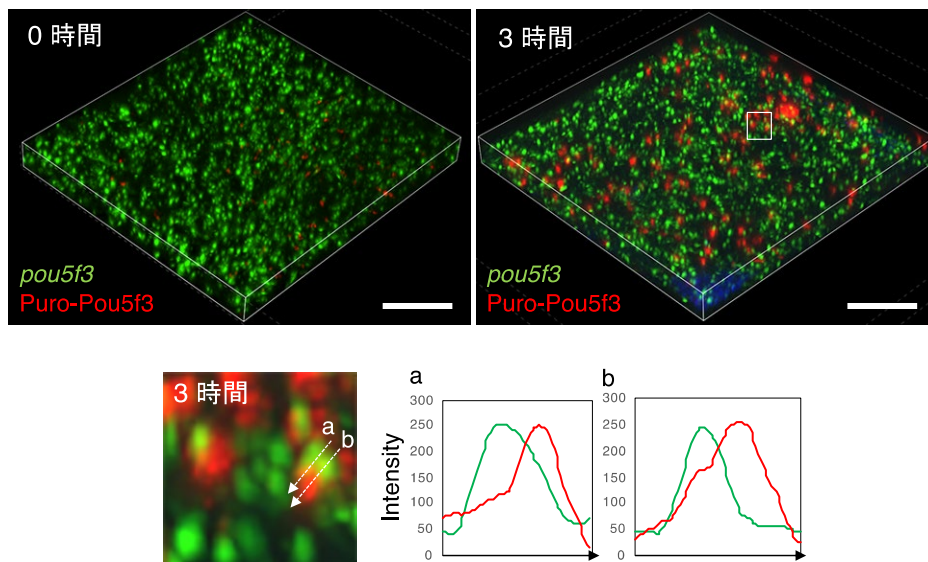


図 2. ゼブラフィッシュ受精卵と胚における *pou5f3* mRNA (緑) と新規に合成された Pou5f3 タンパク質 (赤) の同時検出。(上段) 受精卵 (0 時間) と、卵割期胚 (3 時間) の細胞質。スケールバーは 10  $\mu\text{m}$  を示す。(下段) 卵割期胚 (3 時間) における囲み部分の拡大図。新規に合成された Pou5f3 タンパク質は、*pou5f3* の RNA 顆粒と共局在する。グラフは、a、b それぞれの矢印方向に見た蛍光強度変化をグラフ化したもの。

### 【用語解説】

- \*1 Ribopuromycylation 法 … タンパク質合成阻害剤の puromycin はリボソームの A 部位に入り、合成中のペプチド鎖に取り込まれる。この特性を利用し、puromycin を取り込んだ新規に合成されたタンパク質を、抗 puromycin 抗体で検出する実験手法。
  
- \*2 Puro-PLA 法 … 抗 puromycin 抗体と解析対象のタンパク質に対する特異的抗体を用い、puromycin が取り込まれた解析対象のタンパク質合成のみを検出する実験手法。
  
- \*3 リボソームタンパク質 … mRNA を翻訳するリボソームの構成タンパク質。
  
- \*4 ポリ A 結合タンパク質 … mRNA のポリ A 鎖に結合し、翻訳の活性化に関わるタンパク質。