

ウイルスが翻訳装置を乗っ取る仕組み

—C型肝炎ウイルスゲノム RNA は翻訳中のリボソームを捕まえる—

1. 発表のポイント

- ・C型肝炎ウイルスが、自身のタンパク質を感染細胞に効率的に作らせる仕組みは明らかではなかった。
- ・クライオ電子顕微鏡による立体構造解析や蛍光顕微鏡による1分子観察などの最先端の計測技術により、新たな分子機構を発見。
- ・本研究成果は、抗ウイルス薬の開発などへの貢献が期待される。

2. 概要

理化学研究所（理研）生命機能科学研究センター翻訳構造解析研究チームの伊藤拓宏チームリーダー、岩崎わかな専任研究員、タンパク質機能・構造研究チームの横山武司研究員、兵庫県立大学大学院工学研究科の今高寛晃教授、町田幸大助教、大阪大学蛋白質研究所の原田慶恵教授、多田隈尚史助教らの共同研究グループは、細胞に感染したC型肝炎ウイルス（HCV）^[1]がヒトの翻訳装置を乗っ取る新しい仕組みを発見しました。

本研究成果は、新たな抗ウイルス薬の開発などに貢献すると期待できます。

HCVが引き起こすC型肝炎は、肝がんにつながる重大な病気です。1本鎖RNAをゲノムに持つHCVは、感染した細胞内で自身のRNAを宿主の翻訳装置であるリボソーム^[2]に読み取らせ、ウイルス増殖に必要な多数のタンパク質を合成します。ウイルスタンパク質の効率良い合成には、HCVのRNA配列に存在する「IRES^[3]」と呼ばれる領域が寄与していることは分かっていたましたが、IRESがどのように翻訳効率を向上させているかは謎でした。

今回、共同研究グループは、クライオ電子顕微鏡^[4]による立体構造解析や蛍光顕微鏡による1分子観察^[5]などの最先端の計測技術により、ヒトタンパク質を合成している最中のリボソームに、HCVのIRESが結合し、次に始まる翻訳反応でHCVゲノムを優先的に読み取らせていることを明らかにしました。この乗っ取り機構は、HCVのみならずその近縁のウイルスでも保存されていると考えられ、ウイルスの感染力の源となっているといえます。

本研究は、米国の科学雑誌『*Molecular Cell*』のオンライン版（5月9日付け：日本時間5月10日）に掲載されました。

3. 背景

ウイルスは、生物と同様に自身のゲノム（DNA または RNA）と、それを格納する構造体を持っています。しかし、ウイルスは自分のみでは増殖することができず、宿主細胞を利用して自己複製を行います。そこでウイルスは、細胞に侵入したり、細胞の持つタンパク質を利用したりするための巧妙な仕組みを多く備えています。ある種のウイルスは細胞を機能不全へと導き、最終的に病気を引き起こすことが知られています。HCV は C 型肝炎の原因ウイルスであり、1 本鎖 RNA をゲノムとして持っています。

遺伝情報が記されているメッセンジャーRNA（mRNA）の配列に基づいてアミノ酸を連結し、タンパク質を合成する過程を「翻訳」と呼びます。翻訳反応系は多くのタンパク質と核酸が関わり、細胞のエネルギーの約半分を消費する複雑な反応系です。ウイルスが細胞内で増殖して、再び構造体を形成して細胞外へと出るためには、細胞内で働いている翻訳反応を利用してウイルスタンパク質を作り出す必要があります。細胞内の翻訳反応を担う翻訳装置は、「リボソーム」という巨大なタンパク質・核酸複合体です。リボソームは大小二つのサブユニットからなる翻訳装置であり、真核生物の場合はそれぞれ「60S サブユニット」、「40S サブユニット」と呼ばれています。

真核生物の mRNA の末端には「キャップ^[6]」という構造が付加されており、ここに翻訳の開始に関わるタンパク質「翻訳開始因子^[7]」群（数十種類よりなる）と、40S サブユニット、60S サブユニットが集まります。こうして、60S サブユニットと 40S サブユニットに挟まれた形で、mRNA 上の翻訳開始点から翻訳反応が始まります。一方、HCV をはじめとするある種のウイルス由来の RNA はキャップ構造を持たず、リボソームと限られた種類の翻訳開始因子のみを用いてウイルスタンパク質の合成を効率よく開始します。

HCV は、ゲノム 1 本鎖 RNA がそのまま mRNA として機能しますが、その末端に存在する「IRES」と呼ばれる配列が、効率の良い翻訳開始を担っています。IRES の役割については、多くの研究が精力的に進められています。これまでの知見では、IRES と翻訳開始因子のリボソーム上の結合部位が同じ場所であることから、宿主の mRNA の翻訳反応に使われていない空の 40S サブユニットに IRES が結合することによって、HCV ゲノム RNA の翻訳開始が誘導されると考えられてきました。しかし、この仮説を直接立証した観察はありませんでした。

4. 研究手法と成果

共同研究グループはまず、HCV の IRES がどのような状態のリボソームに結合しているかを解析しました。その結果、従来から唱えられていた通り、HCV の IRES は 40S サブユニットに結合していましたが、意外なことに、すでに他の mRNA を翻訳中のリボソームにも結合していることを見いだしました。

そこで、その状態を詳しく調べるために、通常のヒト細胞の中で起こっているのと同じように、キャップ構造を持つ mRNA と翻訳中のリボソームを試験管内に準備し、そこに HCV の IRES を加えた試料をクライオ電子顕微鏡で観察しました。すると IRES が、進行中の mRNA の翻訳反応を邪魔することなく、40S サブユニットに結合している構造を捉えることに成功しました (図 1)。

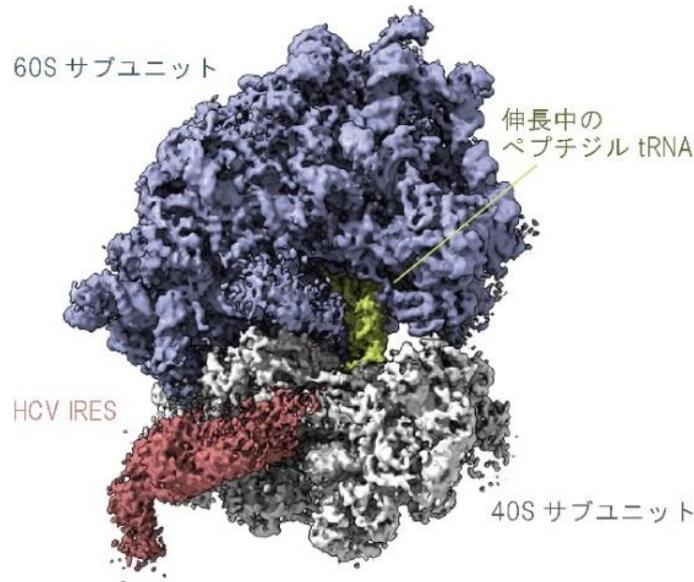


図 1 翻訳反応中のリボソームに結合する IRES を捉えたクライオ電子顕微鏡像

mRNA のキャップ構造に依存して宿主細胞の翻訳を開始したリボソームに結合した C 型肝炎ウイルス(HCV) の IRES (赤)。このリボソーム上には、合成途中のタンパク質 (ペプチド) を結合した tRNA (ペプチジル tRNA : 緑) も同時に観察されたことから、IRES は進行中の mRNA の翻訳反応を邪魔することなく、40S サブユニットに結合しているのが分かる。HCV のゲノム RNA は 1 本鎖であるため、分子内の相補的な塩基同士が水素結合し、IRES の領域は特に複雑な立体構造をとる。

さらに、蛍光顕微鏡を用いた 1 分子観察からも、IRES が確かに翻訳反応中のリボソームに結合していることを確認できました。これらの結果から、IRES は 40S サブユニットに結合しながら、宿主の mRNA の翻訳反応が終結するのを待ち構え、その後リボソームを「乗っ取る」と考えられます。

それでは、HCV ゲノムを翻訳中のリボソームに対しても、IRES はリボソームに結合し続けることができるのでしょうか。この問いに答えるため、IRES に依存して翻訳を開始した場合についても試験管内で試料を調製し、クライオ電子顕微鏡で観察しました。すると、やはり IRES が翻訳反応中のリボソームの 40S サブユニットに結合していることが分かりました。

また、生化学的な実験により、HCV ゲノム自身の翻訳 (IRES に依存した翻訳) の開始は、キャップ構造を持つ mRNA を翻訳中のリボソームを用いたほうが、翻訳反応に使われていない空のリボソームを用いるよりも、迅速に進むことが明らかになりました。この結果とクライオ電子顕微鏡による観察結果と併せる

と、従来の「使われていない 40S サブユニットに HCV の IRES が結合して、HCV のタンパク質合成が開始される」モデル（図 2 の VI→III→IV→V の流れ）よりも、「細胞の mRNA を翻訳中のリボソームに HCV の IRES が結合し乗っ取る」（図 2 の I→II→III→IV→V）場合の方が、より効率よく頻繁に起こると考えられます。さらに、HCV ゲノムの翻訳に使われている 40S サブユニットを、次のラウンドの翻訳の際にもう一度使う（図 2 の V→III）といったシステムも存在しうることが示されました。

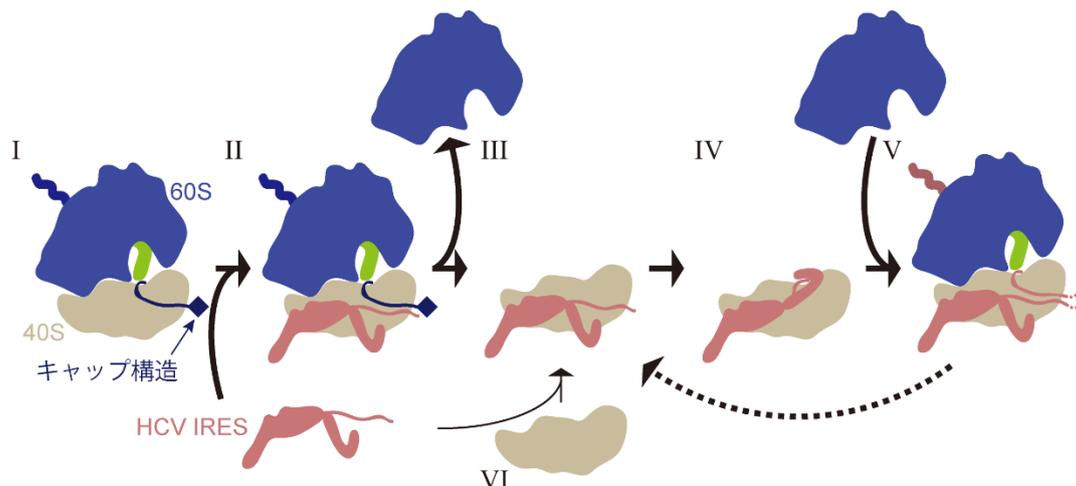


図 2 HCV の IRES が翻訳装置リボソームを乗っ取る過程の模式図

翻訳中のリボソームを構成する 60S サブユニット（青）、40S サブユニット（灰）、ペプチジル tRNA（緑）および翻訳される mRNA を模式的に示す。キャップ構造依存的に翻訳中のリボソーム (I) の 40S サブユニットに HCV の IRES が結合し (II)、翻訳が終了すると (III)、結合していた IRES は下流のウイルス RNA の翻訳を誘導し (IV)、ウイルスタンパク質の合成が開始する (V)。同じ HCV の IRES と 40S サブユニットのペアが、次のラウンドの翻訳を担っているかもしれない (V→III)。翻訳に使われていないリボソームに、HCV の IRES が結合する場合もある (VI)。

5. 今後の展開

クライオ電子顕微鏡をはじめとした先端的な計測手法と、試験管内再構成という生化学的な手法の組み合わせは、日本の構造生物学研究の強みの一つです。本研究は、HCV の IRES が、これまで想定されていなかった方法で反応中の翻訳装置リボソームを乗っ取っていることを示した点で画期的です。今回明らかになった機構は、HCV の IRES と同じような構造を持つウイルスに共通すると考えられます。従って、IRES とリボソームの 40S サブユニットとの相互作用を阻害する薬剤を開発できれば、効果的な抗ウイルス薬になる可能性があります。

翻訳は、生物が持つ最も基本的な反応の一つです。その機構の解明は分子生物学の古典的な課題ですが、従来は見過ごされてきた新しい翻訳機構や翻訳制御機構が翻訳反応系に潜んでいる可能性があります。今後のさらなる研究によって、それらの機構が明らかになっていくと期待できます。

6. 特記事項

本研究は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費補助金 新学術領域研究（研究領域提案型）「ピコルナウイルスの2 A ペプチドの終止コドン非依存的翻訳終結の構造基盤（研究代表者：伊藤拓宏）」、「ウイルスが引き起こす非標準的な翻訳機構の構造基盤（研究代表者：伊藤拓宏）」、「AMPA 型グルタミン酸受容体の速くて複雑な動的構造の活写（研究代表者：重松秀樹）」、「膜蛋白質の速くて複雑な動的機能構造を活写するハイブリッド構造解析基盤（研究代表者：重松秀樹）」、「ncRNA 作動装置構築の分子動態解析基盤の開発（研究代表者：泊幸秀、研究分担者：多田隈尚史）」、同基盤研究 (B) 「HCV IRES によるリボソーム・ハイジャックの分子機構（研究代表者：伊藤拓宏）」、「動物 RNA ウイルス生活環の試験管内再現（研究代表者：今高寛晃）」、「分子間距離で紐解く、遺伝子発現反応場の再構成（研究代表者：多田隈尚史）」、日本医療研究開発機構（AMED）創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）「統合的構造解析に向けた高難度複合体の生産支援と高度化（研究代表者：白水美香子）」、および武田科学振興財団ライフサイエンス研究奨励「真核生物の翻訳開始制御機構の解明（研究代表者：伊藤拓宏）」による支援を受けて行われました。

7. 論文情報

<タイトル>

HCV IRES captures an actively translating 80S ribosome

<著者名>

Takeshi Yokoyama, Kodai Machida, Wakana Iwasaki, Tomoaki Shigeta, Madoka Nishimoto, Mari Takahashi, Ayako Sakamoto, Mayumi Yonemochi, Yoshie Harada, Hideki Shigematsu, Mikako Shirouzu, Hisashi Tadakuma*, Hiroaki Imataka*, and Takuhiro Ito*（*責任著者）

<雑誌>

Molecular Cell

<DOI>

10.1016/j.molcel.2019.04.022

8. 補足説明

[1] C 型肝炎ウイルス（HCV）

1 本鎖 RNA ウイルスで、約 9.6 kb のゲノムが三つの構造タンパク質（Core、E1、E2）と七つの非構造タンパク質（p7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B）をコードしている。通常、ヒトとチンパンジーにしか感染することができず、全世界で約 1 億 7000 万人が HCV に感染していると推測されている。HCV は *hepatitis C virus* の略。

[2] リボソーム

メッセンジャーRNA にコードされた遺伝子情報を、タンパク質を構成するアミノ酸の配列へと「翻訳」する、細胞内のタンパク質合成工場。コア領域は RNA で構成され、その外側をタンパク質が取り囲む、巨大な RNA タンパク質複合体。大サブユニットと小サブユニットの二つのサブユニットから構成され、真核生物の場合はそれぞれ 60S サブユニットと 40S サブユニットとも呼ばれる。

[3] IRES

真核生物の通常の翻訳開始過程は、mRNA の 5' 末端のキャップ構造を翻訳開始因子群が認識し、リボソームを呼び込む。一方で、IRES 配列を持つ mRNA は、IRES RNA が立体構造を組むことで、直接リボソームを呼び込む。そのため、キャップ構造非依存的に翻訳過程を開始できるので、一部の RNA ウイルスが、自身の遺伝子から効率良くタンパク質を生成するのに用いている。IRES は、Internal Ribosome Entry Site の略。

[4] クライオ電子顕微鏡

生体試料を液体エタンにより急速凍結し、ガラス状の氷に閉じ込め、透過型電子顕微鏡を用いて直接観察する手法。画像処理技術を駆使することで、リボソームなどの超分子複合体や、タンパク質複合体の三次元立体構造を得ることができる。

[5] 1 分子観察

蛍光分子 1 個が出す光を捉える顕微鏡により、分子の挙動を 1 分子レベルで追跡するイメージング技術を用いた観察。

[6] キャップ

真核生物の mRNA の 5' 末端に特徴的な構造。核酸の重合は通常 5'→3' で結合が進むが、mRNA の 5' 末端は修飾反応によりグアノシンが 5'-5' 結合となっている。mRNA の 5' 末端を保護するためや、翻訳開始因子と mRNA の結合に関わっている。

[7] 翻訳開始因子

細胞内でタンパク質の合成（翻訳）を行うリボソームが、合成を開始する際に協調的に働くタンパク質群。真核生物の翻訳開始因子は真核生物型開始因子（eIF; eukaryotic Initiation Factor）と呼ばれる。

9. 参考 URL

大阪大学 蛋白質研究所 蛋白質ナノ科学研究室
<https://www.ccc.osaka-u.ac.jp/protein/nanobiology/>

10. キーワード

原田慶恵
多田隈尚史