

核酸の相互作用動態解析に基づく翻訳制御機構の解明

亀田健

立命館大学

1. はじめに

真核生物のセントラルドグマの過程において、転写された mRNA の情報を元としたタンパク質の合成プロセスである翻訳は、mRNA の開始コドン (AUG) の位置によって開始点が規定されており、リボソーム翻訳開始複合体 (Pre-Initiation Complex: PIC) による AUG の塩基認識の安定化がその規定の役割を担っている。しかしながら、この翻訳開始機構については、以前より AUG 以外の類縁コドン (GUG や CUG) が、ミスマッチ塩基の箇所に依存して一定の翻訳開始可能性を示すことが知られていた。一方で、その分子機構の詳細はこれまで未解明であった。

近年の巨大分子複合体に関する構造決定技術の発展に伴い、PIC の AUG 認識中の構造も取得されるようになった。そこで著者らのグループは、分子動力学シミュレーションを用い、ミスマッチコドン依存的な翻訳開始制御機構を、分子動態の観点から考察を試みた⁽¹⁾。また共同実験研究者による、修飾塩基の導入でミスマッチを克服した翻訳開始強度を実現できる事実に関しても、当グループで構築したシミュレーションプロトコルを応用して考察した^(2,3)。

2. PIC を用いた分子動力学シミュレーション

クライオ電子顕微鏡により決定された PIC の構造 (PDB ID: 3J81) に対し、開始コドン認識サイト周辺領域を抽出し、ミスマッチコドンは塩基を直接編集する形でモデリングした (図 1b)。その構造に対し、水球で包む形でシミュレーション系を構築した (図 1c)

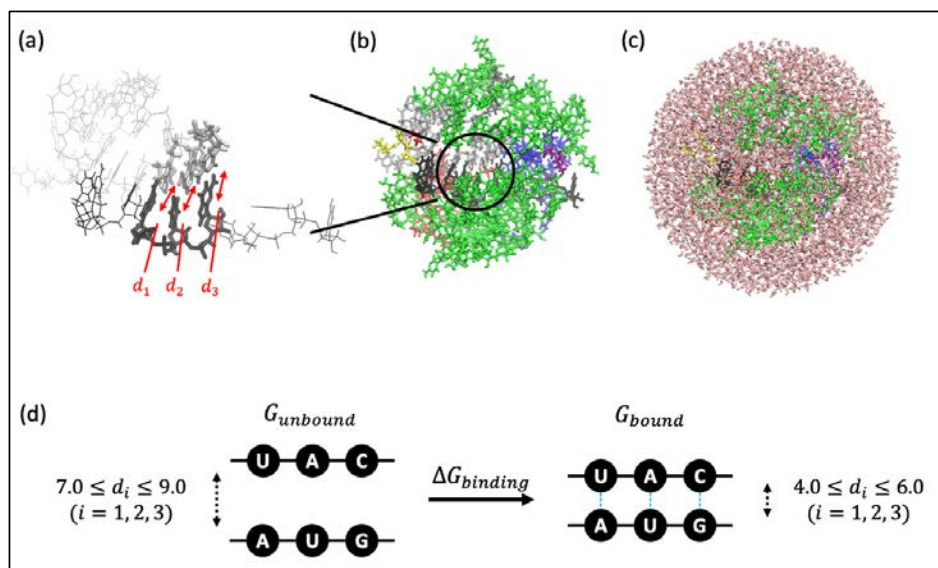


図 1: 分子シミュレーションの設定 (論文 1 より転載 (CC-BY))。 (a) シミュレーションにおける反応座標、 (b) PIC から抽出した部分構造、 (c) 溶液込みのシミュレーション系、 (d) 結合状態と非結合状態の定義。 ミスマッチコドンについても、同様に結合状態を定義する。

事前検討として行なった通常の分子動力学シミュレーションでは、(ミスマッチ含む) コドンと tRNA 側のアンチコドン (CAU) の各塩基対間の距離 (図 1a) の分布を、ほとんどサンプリングできなかった。そこで、より広範囲なエネルギー地形のサンプリングに秀でる **Adaptive Biasing Force** 法を用い、各塩基対間の距離を反応座標とした多次元自由エネルギー地形を評価し、コドンとアンチコドン間の塩基対形成に伴う親和性 (図 1d)、及び結合動態を推定した。

3. PIC におけるコドン – アンチコドン間の結合動態

(ミスマッチ含む) コドンとアンチコドン間の結合自由エネルギー (図 1d) は、既知の翻訳開始頻度と非常に良く相関した⁽¹⁾。そこで、各塩基間の多次元自由エネルギーの投影分布から、塩基のミスマッチ依存性の分子メカニズムを見出した。正しいコドン AUG に対する、GUG や CUG のような一文字目のミスマッチの許容性は、PIC 複合体の内部構造に由来している。本来の水素結合では一文字目の A から外れるはずであるが、PIC 内のアンチコドン側の構造歪みにより、三文字目から解離する方向に力が生じ、結果的に一文字目のミスマッチのみ許容されやすくなっているのである (図 2)。本結果は、既知のミスマッチコドン依存的な翻訳頻度の実験結果を、非常に良く説明した⁽¹⁾。なお、本計算方法はプロトコル論文として別途公開されている⁽²⁾。

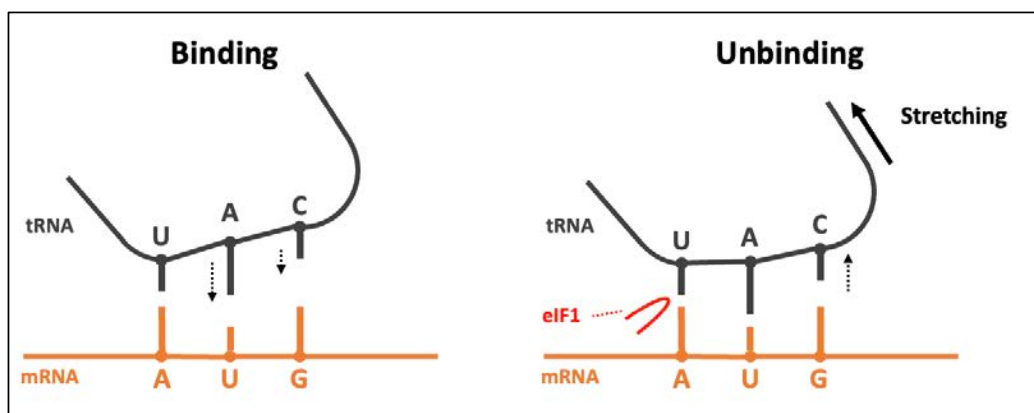


図 2：本計算手法から得られた帰結 (論文 1 より転載 (CC-BY))。本来の AUG の場合だと、三文字目の G から塩基対が順に解離し、逆に一文字目の A から結合していくと推定された。

4. 修飾塩基による翻訳開始可能性

RNA の塩基のうち、ウラシル (U) の誘導体である Pseudouridine (Ψ) は、mRNA 医薬の実用化の際にも用いられる塩基であるが、共同研究者のグループは、CUG や GUG のミスマッチコドン内の U を Ψ に変換することで、翻訳開始可能性を正しいコドン (AUG) と水準まで引き上げられる知見を有していた。そこで本シミュレーション技術を応用し、 Ψ 塩基の導入により翻訳開始可能性が高まる分子メカニズムを、先ほどと同様の視点で考察した。

まず結合自由エネルギーに関しては、期待通り AUG と同程度の強さが推定された (図 3a)。そこで、本計算結果から目的の考察が可能であると考え、実際に結合状態の描像を解析した。すると、 Ψ 塩基を導入したミスマッチコドンは、 Ψ 塩基とアンチコドン側の A との塩基対形成によるスタッキング効果の向上により、(真っ先に解離する) 三文字目の G の塩基対への、ミスマッチ塩基の影響が軽減されていることがわかった (図 3b)。この結果から、 Ψ 塩基依存な翻訳開始可能性の向上も、物理学的な相互作用の観点から説明されることが示された⁽³⁾。

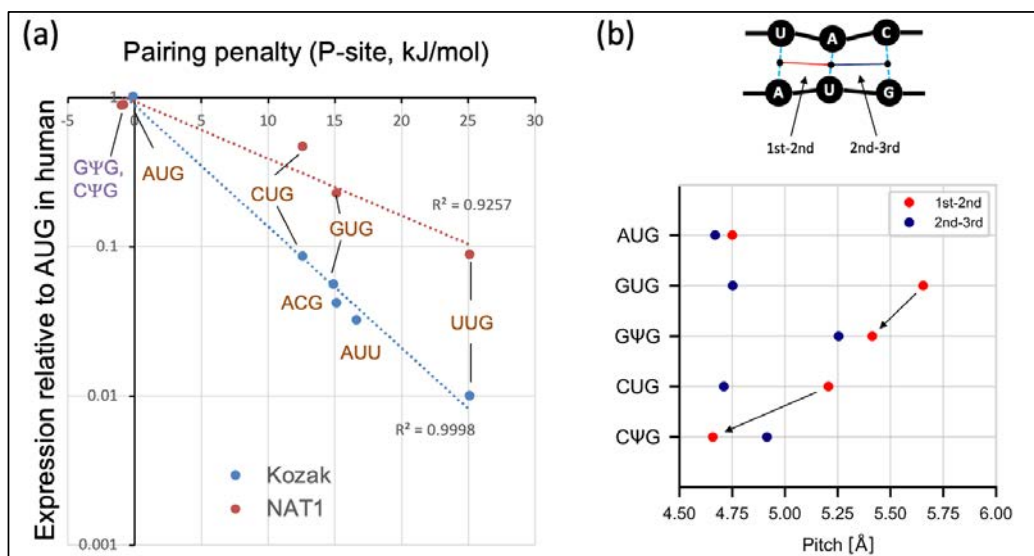


図 3: Ψ 塩基を含むミスマッチコドンを変えた本研究の計算結果(論文 3 より転載(CC-BY))。
a: 翻訳開始可能性と、結合自由エネルギーの比較図、b: 各塩基対中点間の距離の分布。

5. まとめ

本研究では、分子動力学シミュレーションを用い、生物物理学的観点から翻訳開始機構を考察した。全体的に、既知の実験結果を良く説明する分子動態に基づくシナリオが提案された。今後も翻訳周辺の生物学的な課題の解決を試みていく。

本研究は分子動力学シミュレーションを用いて、核酸を含む生体分子系の生物学的謎の解明を行なった画期的な例である。以前と比べて複雑な分子構造の決定と大規模な分子シミュレーションが可能となった現在では、シンプルなタンパク質系のシミュレーションに留まらない、より複雑な生命現象への生物物理学的・計算科学的な解明が期待される⁽⁴⁾。

参 考 文 献

- (1) Kameda, T., Asano, K., and Togashi, Y. (2021). Free energy landscape of RNA binding dynamics in start codon recognition by eukaryotic ribosomal pre-initiation complex. PLOS Computational Biology, 17 (6), e1009068.
- (2) Kameda, T., Saha, D. K., Ray, S., Togashi, Y., and Asano, K. (2024). Protocol for calculating binding free energy of RNA: RNA interactions through molecular dynamics simulations using adaptive biasing force technique. STAR protocols, 5 (3), 103223.
- (3) Fujita, Y., Kameda, T., Singh, C. R., Pepper, W., Cecil, A., Hilgers, M., ... and Asano, K. (2022). Translational recoding by chemical modification of non-AUG start codon ribonucleotide bases. Science Advances, 8 (14), eabm8501.
- (4) Kameda, T., Awazu, A., and Togashi, Y. (2022). Molecular dynamics analysis of biomolecular systems including nucleic acids. Biophysics and Physicobiology, 19, e190027.