

微生物からヒトまで保存された機能未知翻訳関連因子の機能解析

Functional analysis of a conserved translation-related factor of unknown function from microorganisms to humans

(日本農芸化学会推薦)

代表研究者	富山県立大学	高田 啓	Toyama Prefectural University	Hiraku TAKADA
共同研究者	東京大学	岩間 亮	The University of Tokyo	Ryo IWAMA

Protein synthesis is a conserved but vulnerable process, and cells require auxiliary factors to overcome translational stalling. In this study, we investigated conserved TACO1 family proteins in three microorganisms: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Aspergillus nidulans*. In *B. subtilis*, genetic analyses suggested that the TACO1 family protein YeeI and the related factor YrbC functionally interact with EF-P, a translation factor that facilitates synthesis of difficult sequences such as polyproline motifs. In *E. coli*, loss of *yebC* or *yeeN* enhanced the growth defect caused by impaired EF-P function, and the analysis of suppressor strains suggested a link to ribosome rescue pathways. In *A. nidulans*, deletion of the TACO1 family protein MrrA affected conidiation and mitochondrial physiology. Although the observed phenotypes differed among the three organisms, they commonly became apparent under conditions where translation or mitochondrial function was challenged. These findings suggest that TACO1 family proteins have diversified in different organisms while retaining a conserved role in supporting difficult translation events. This study also provides a basis for future biochemical and structural analyses of this conserved protein family.

研究目的

タンパク質合成は、生命活動の根幹をなす反応であり、リボソームが mRNA の遺伝情報を読み取り、アミノ酸をつなげてポリペプチド鎖を合成する過程である。この反応は細菌から真核生物まで高度に保存されている。一方で、翻訳反応は常に円滑に進行するわけではない。例えば、プロリンが連続する配列、荷電アミノ酸が連続する配列、異種遺伝子産物、あるいは抗生物質などによって、リボソームの進行が停滞することが知られている。このような翻訳停滞は、タンパク質合成量の低下だけでなく、リボソームの衝突、mRNA の分解、異常翻訳産物の蓄積などを引き起こし、細胞機能に大きな影響を及ぼす。

細胞は、このような翻訳停滞を回避・解消するために、多様な翻訳補助因子を利用している。EF-P は、細菌においてプロリン連続配列など翻訳しにくい配列の合成を助ける翻訳伸長補助因子であり、真核生物では eIF5A が機能的に類似した役割を担う。また、

ABCF 因子は ATP のエネルギーを利用してリボソームに作用する因子群であり、その一部は停滞したリボソームの翻訳再開や抗生物質耐性に関与する。例えば YfmR は、枯草菌において翻訳停滞の解消に関わる ABCF 因子として知られる。さらに、停滞または衝突したリボソームや mRNA を処理し、翻訳装置を再利用可能な状態に戻すリボソームレスキュー因子も存在する。しかし、翻訳装置に関わる保存性の高い因子の中には、その分子機能や生理的役割が十分に理解されていないものが多く残されている。

本研究では、微生物からヒトまで広く保存される一方で、その詳細な機能が不明であった TACO1 family 因子に着目した。TACO1 は、ヒトにおいてミトコンドリア病との関連から同定された因子であり、ミトコンドリア DNA にコードされた COX I の翻訳に関与することが報告されていた(参考文献 1)。また、マウスを用いた解析からも、TACO1 がミトコンドリア翻訳と呼吸鎖機能の維持に重要であることが

示されていた（参考文献 2）。さらに、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の TACO1 オルソログである Dpc29 については、COX1 に限定された翻訳活性化因子ではなく、ミトコンドリア翻訳の開始後段階に関わる一般的な翻訳因子として機能することが報告されていた（参考文献 3）。これらの知見は、TACO1 family 因子が真核生物のミトコンドリア翻訳において重要な役割を担うことを示していた。一方で、TACO1 family に属するタンパク質は、細菌、真菌、植物、動物に広く保存されているにもかかわらず、その翻訳反応における役割や生理的意義には未解明な点が多かった。特に興味深い点として、TACO1 family 因子は、細菌から真核生物ミトコンドリアまで保存されている翻訳関連因子であるにもかかわらず、その分子機能が長らく不明であった。翻訳開始因子、翻訳伸長因子、翻訳終結因子のような翻訳反応の中核因子が生物界で広く保存されていることはよく知られている。一方で、翻訳停滞の解消や翻訳品質管理に関与する補助因子については、生物種ごとの特異性が強く、細菌からミトコンドリアまで保存されている例は比較的限られている。ミトコンドリアは細菌型翻訳装置に由来する性質を保持しているが、TACO1 family 因子のように、細菌細胞質と真核ミトコンドリアの双方に保存される翻訳補助因子は稀である。そのため、TACO1 family 因子は、祖先的な細菌型翻訳補助機構がミトコンドリア翻訳系にも保持されている可能性を示す点で極めて興味深い。

申請段階では、申請者らはモデル原核微生物である枯草菌 *Bacillus subtilis* において、*efp* と強い遺伝的相互作用を示す遺伝子として、TACO1 family に属する *yeeI* を同定していた。この発見を出発点として、本研究では、TACO1 family 因子が翻訳反応のどの局面に関与するのか、またその機能が原核微生物と真核微生物の間でどのように保存・分化しているのかを明らかにすることを目的とした。

なお、TACO1 family 因子は生物種ごとに名称が異なる。本研究では、枯草菌では *YeeI* および関連因子 *YrbC*、大腸菌 *Escherichia coli* では *YebC*/*YeeN*、糸状菌 *Aspergillus nidulans* では *MrrA* として解析した。本報告書では、これらを総称して TACO1 family 因子と記載し、必要に応じて各生物種での因子名を併記する。

研究経過

本研究では、TACO1 family 因子の機能を、原核微生物と真核微生物の双方から理解することを目指した。まず、本研究の出発点となった枯草菌 *B. subtilis* において、TACO1 family 因子 *YeeI* および関連因子 *YrbC* の解析を進めた。枯草菌はグラム陽性細菌のモデル生物であり、翻訳制御因子の遺伝学的解析に適している。申請段階で、申請者らは、EF-P と強い遺伝学的関係を示す因子として *YeeI* を同定していた。EF-P は、プロリン連続配列など翻訳が停滞しやすい新生鎖配列の合成を促進する因子である。本研究では、*YeeI* および *YrbC* が EF-P とどのような機能的関係を持つのかを明らかにするため、遺伝学的解析および翻訳レポーター系を用いた解析を行った。

その結果、*YeeI*/*YrbC* は、新生鎖依存的な翻訳停滞の処理に関与する可能性が示された。特に、EF-P 機能が低下した状況で *YeeI*/*YrbC* の重要性が顕在化したことから、これらの因子は EF-P と並行して、または一部協調して、翻訳伸長反応の脆弱な局面を補助していると考えられた。なお、詳細な分子機構については、現在も解析を継続している。

この枯草菌で見いだした TACO1 family 因子と EF-P との関係が、他の原核微生物にも保存されているのかを検証するため、次に大腸菌 *E. coli* を用いた解析を行った。大腸菌では、*yebC* または *yeeN* の単独欠損では顕著な表現型が見られない一方、*efp* 遺伝子との二重欠損株では顕著な生育遅延生育が観察できた。さらに、生育改善株の解析から、TACO1 family 因子とリボソームレスキュー経路との関連が示唆された。リボソームレスキューとは、翻訳が途中で止まったリボソームや mRNA を処理し、細胞内のリボソームを再利用可能な状態に戻す仕組みである。本解析では、停滞または衝突したリボソームの処理に関わる因子群との関連が示唆された。現在、この成果については論文投稿に向けた準備を進めているため、ここでは関連遺伝子名や変異の詳細は伏せるが、これらの結果は、TACO1 family 因子の機能低下による生育不全が、翻訳停滞そのものだけでなく、停滞後のリボソーム処理過程とも関係することを示唆する。

さらに、TACO1 family 因子は真核生物のミトコンドリアにも保存されていることから、真核微生物における生理的役割を明らかにするため、糸状菌 *A. nidulans* の TACO1 family 因子を解析した。出芽酵母

では TACO1 オルソログ Dpc29 がミトコンドリア翻訳の開始後段階に関わる一般的な翻訳因子として機能することが報告されているが、その機能低下が真核微生物の発生・分化過程にどのように影響するかは十分に理解されていない。*A. nidulans* は絶対好気性であり、ミトコンドリア機能への依存性が高いため、TACO1 family 因子の生理機能を検出しやすいと考えられた。そこで、本研究では *A. nidulans* の TACO1 family 因子を MrrA と命名し、その欠損株を用いて表現型解析を行った。その結果、MrrA の欠損により、分生子形成に異常が生じることが明らかになった。また、ミトコンドリア機能の低下を示唆する表現型も観察された。これらの結果から、真核微生物において TACO1 family 因子は、ミトコンドリア翻訳を介して細胞分化過程に関与する可能性が示された。

考察

本研究の重要な成果は、TACO1 family 因子の機能を、原核微生物である枯草菌・大腸菌と、真核微生物である糸状菌を横断して解析した点にある。これにより、TACO1 family 因子が、細菌では EF-P と関連した翻訳困難配列の処理やリボソームレスキュー経路との関係として、真核微生物ではミトコンドリア機能および分生子形成への影響として現れることが見えてきた。すなわち、各宿主で観察される表現型は異なるものの、TACO1 family 因子が翻訳装置に負荷がかかる局面で重要となるという共通した特徴が示唆された。

原核微生物においては、TACO1 family 因子の機能は、EF-P が関与する翻訳困難配列の処理と密接に関係していた。枯草菌では YeeI/YrbC が EF-P 機能の低下時に重要となり、大腸菌では YebC/YeeN の欠損が EF-P 機能低下時の生育不全を増悪させた。したがって、因子名や表現型の強さは宿主により異なるものの、原核微生物では TACO1 family 因子が EF-P と並行して、翻訳困難配列の処理に関与するという共通した構図が見えてきた。

大腸菌の解析では、さらに翻訳停滞後の処理経路との接点が示唆された。翻訳停滞は、それ自体が問題であるだけでなく、停滞したリボソームが mRNA 上に残ることで、後続のリボソームの衝突や mRNA の異常処理を引き起こす可能性がある。そのため、細胞にはリボソームレスキューと呼ばれる処理機構

が備わっている。本研究で得られた結果は、TACO1 family 因子の機能を、単なる翻訳伸長補助因子としてではなく、翻訳停滞後のリボソーム品質管理と関連づけて理解する必要があることを示唆している。

一方、真核微生物である糸状菌では、TACO1 family 因子 MrrA の欠損は、細胞質翻訳ではなくミトコンドリア機能の低下として表れた。ミトコンドリアは独自の翻訳装置を持ち、細菌型リボソームに由来する性質を保持している。出芽酵母 Dpc29 がミトコンドリア翻訳の一般因子として機能することが既に報告されていたことを踏まえると（参考文献 3）、本研究で得られた結果は、その知見を糸状菌へ拡張し、TACO1 family 因子の機能低下がミトコンドリア機能だけでなく分生子形成という発生・分化過程にも影響することを示す点に意義がある。

本研究期間中には、TACO1 family 因子の翻訳関連機能を支持する海外グループからの報告も相次いだ。2024 年以降、ヒトミトコンドリア TACO1 がミトリボソーム上でポリプロリン配列に起因する翻訳停滞を軽減することが報告された（参考文献 4）。さらに、2025 年には、*B. subtilis* の YebC2、すなわち YeeI が、ポリプロリン配列でのリボソーム停滞を解消し、EF-P および ABCF ATPase である YfmR を欠く細胞の fitness を改善することが報告された（参考文献 5）。また、*Streptococcus pyogenes* の YebC についても、23S rRNA のペプチジルトランスフェラーゼセンター近傍に一過的に相互作用し、proline-rich motif の効率的な翻訳に必要であることが報告された（参考文献 6）。これらの報告は、TACO1 family 因子が原核・真核の翻訳系に共通して、プロリンを含む翻訳困難配列の処理に関わる保存された翻訳関連因子であるという本研究の方向性を強く支持するものである。

特に、翻訳停滞応答や翻訳品質管理に関与する補助因子が、細菌から真核生物ミトコンドリアまで保存されている例は比較的少なく、本研究は、TACO1 family 因子がそのような保存された翻訳補助機構の一例である可能性を示した点に意義がある。

さらに、本研究から得られた知見は、予想外の応用的展開にもつながりつつある。TACO1 family 因子は、プロリン連続配列のような翻訳困難配列に対するリボソーム反応を補助する性質をもつことから、人工アミノ酸や非タンパク質性アミノ酸を含む特殊ペプチドの翻訳合成を促進する分子ツールとして利用できる可能性がある。この点は当初の申請段階で

は想定していなかった展開であり、本研究の主軸ではないが、TACO1 family 因子の基礎的な機能解明が、将来的に特殊ペプチド合成技術の高度化へつながることを示す萌芽的成果である。未発表内容を含むため詳細は控えるが、今後、関連する共同研究の成果として発展させたい。

以上より、本研究は、TACO1 family 因子が原核微生物と真核微生物の双方において、翻訳反応に関連した細胞生理に重要な役割を果たすことを示した。特に、枯草菌・大腸菌・糸状菌という異なる生物種を比較することで、TACO1 family 因子の種特異的な表現型と、翻訳困難状態への応答という共通原理の両方を見いだすことができた。今後は、各因子がリボソームのどの部位に、どのタイミングで作用するのかを生化学的・構造生物学的に明らかにすることで、TACO1 family 因子が担う翻訳制御機構の分子基盤を解明したい。

参考文献

1. Weraarpachai, W. et al. Mutation in TACO1, encoding a translational activator of COX I, results in cytochrome c oxidase deficiency and late-onset Leigh syndrome. *Nature Genetics* 41, 833–837, 2009.
 2. Richman, T. R. et al. Loss of the RNA-binding protein TACO1 causes late-onset mitochondrial dysfunction in mice. *Nature Communications* 7, 11884, 2016.
 3. Hubble, K. A. and Henry, M. F. DPC29 promotes post-initiation mitochondrial translation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Research* 51, 1260–1276, 2023.
 4. Brischigliaro, M. et al. The human mitochondrial translation factor TACO1 alleviates mitoribosome stalling at polyproline stretches. *Nucleic Acids Research* 52, 9710–9725, 2024.
 5. Hong, H.-R. et al. YebC2 resolves ribosome stalling and increases fitness of cells lacking EF-P and the ABCF ATPase YfmR. *PLOS Genetics* 21, e1011633, 2025.
 6. Ignatov, D. et al. RNA-binding protein YebC enhances translation of proline-rich amino acid stretches in bacteria. *Nature Communications* 16, 6262, 2025.
- #### 研究の発表
- ##### 口頭発表
1. 微生物における翻訳品質管理機構の最前線. 高田啓. 第 47 回日本分子生物学会年会, 2024 年 11 月 27–29 日 博多.
 2. 枯草菌における新規翻訳制御因子の探索と機能解析. 高田啓, 藤原圭吾, 杉本竜太, 大島拓, 千葉志信, Vasili Hauryliuk. 第 19 回日本ゲノム微生物学会年会, 2025 年 3 月 17–19 日 木更津.
 3. 翻訳制御機構の理解から探る応用微生物学. 高田啓. 日本農芸化学会 2025 年度大会, 2025 年 3 月 4–8 日 札幌.
 4. リボソーム活性中心というナノスケール空間での翻訳制御と品質管理. 高田啓. 第 48 回日本分子生物学会年会. 2025 年 12 月 3–5 日 横浜.
 5. 糸状菌の分生子形成におけるミトコンドリア翻訳関連因子の役割. 中川俊明, 福田良一, 高田啓, 岩間亮. 日本農芸化学会 2026 年度大会, 2026 年 3 月 9–12 日 京都.
 6. 微生物における翻訳品質管理機構の進化的多様性と保存性の理解. 高田啓. 日本農芸化学会 2026 年度大会, 2026 年 3 月 9–12 日 京都.
- ##### ポスター発表
1. 糸状菌におけるミトコンドリア内翻訳関連因子の生理的意義の解析. 中川俊明, 福田良一, 高田啓, 岩間亮. 日本農芸化学会 2025 年度大会, 2025 年 3 月 5 日–8 日 北海道.
 2. ミトコンドリア内翻訳関連因子 MrrA の *Aspergillus nidulans* における生理的意義. 中川俊明, 福田良一, 高田啓, 岩間亮. 第 23 回糸状菌分子生物学コンファレンス, 2025 年 11 月 17–18 日 愛知.
 3. ミトコンドリア内翻訳関連因子 MrrA の *Aspergillus nidulans* における生理的意義. 中川俊明, 福田良一, 高田啓, 岩間亮. 第 23 回糸状菌分子生物学コンファレンス, 2025 年 11 月 17–18 日 愛知.