

リボソーム停滞を引き金とする翻訳の産物・ 基質・装置の分解経路

李 思涵, 稲田 利文

タンパク質翻訳中のリボソームの状態は厳密に監視されており、遺伝子発現の正確性と効率性が保証されている。リボソームの停滞は異常翻訳の目印の一つであり、タンパク質の恒常性を損なって生命機能の破綻を招く恐れがある。細胞には、リボソーム停滞を認識し、その産物（新生ペプチド鎖）・基質（mRNA）・装置（リボソーム）を分解・排除する翻訳品質管理機構が備わっている。近年、停滞を感知する「停滞センサー因子」をはじめ、停滞したリボソームに結合する多数の因子の同定とその機能の解明に伴い、仕様の異なるさまざまなリボソーム停滞の感知を品質管理機構の実行へと結びつける仕組みが明らかになりつつある。本稿では、停滞センサー因子の働きを中心に、停滞したリボソームをハブとする多様な翻訳品質管理機構の分子メカニズムについて最新の知見を紹介する。

1. はじめに

メッセンジャー RNA (mRNA) の塩基配列として示された遺伝情報をタンパク質へと変換する「翻訳」過程の異常は、タンパク質の恒常性を損ない、生命機能の破綻を招く。正確かつ効率的な翻訳を維持するために、細胞には異常翻訳を認識し解消する品質管理機構が備わっている。タンパク質翻訳の品質管理は単一の経路ではなく、異常翻訳における新生ペプチド鎖（産物）の分解系、翻訳されている mRNA（基質）の切断・分解系、さらに翻訳を行うリボソーム（装置）それ自身の分解系、といった複数の経路によって構成されている。これらの経路は共通して、mRNA 上のリボソームの失速・停滞によって惹起されることが明らかとなっている。翻訳におけるリボソームの状態が厳密

に監視されており、リボソーム停滞が異常翻訳の分子実体であるといえる。

近年、遺伝学的解析により、リボソーム停滞という情報を感知して翻訳品質管理の実行へと結びつける「停滞センサー因子」が複数同定されている。真核生物ではその多くがリボソームの構成タンパク質のユビキチン化反応を行う酵素もしくは関連因子である。実際、複数の品質管理経路はリボソームのユビキチン化を引き金とし、停滞したリボソームは翻訳品質管理のハブとして機能することが報告されている。リボソーム上にはユビキチン修飾部位が多数存在しており、停滞センサー因子によるユビキチン化の選択性が品質管理の標的を決定することが示唆されている。また、クライオ電子顕微鏡法を中心とした構造学的解析、およびリボソームプロファイリング法を用いた高解像度の翻訳解析の発展により、個々の停滞センサー因子がどのような停滞リボソームを認識するのか、すなわち基質特異性が解明されつつある。本稿では、リボソーム停滞に起因するユビキチン化を引き金とし、異常翻訳の産物・基質・装置それぞれを分解する経路の概要を説明する。各経路における停滞センサー因子をはじめ、停滞したリボソームに結合する因子の働きに焦点を当てて、翻訳品質管理の分子メカニズムに関する最新の知見を紹介する。

東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野 (〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1 東京大学医科学研究所総合研究棟 1F)

Ribosome-stalling-driven degradation pathways of translation products, substrates, and machinery

Sihan Li and Toshifumi Inada (Division of RNA and gene regulation, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku 108-8639, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2024.960749

© 2024 公益社団法人日本生化学会

2. RQC：異常翻訳産物の分解経路

1) 停滞したリボソーム由来の新生ペプチド鎖を分解する品質管理機構

翻訳伸長中のリボソーム停滞はタンパク質合成効率の低下に加え、毒性を示しうる不完全なタンパク質の蓄積を引き起こし、タンパク質恒常性が破綻する原因となる。このような異常翻訳産物を排除する品質管理機構は *ribosome-associated quality control* (RQC) と呼ばれている¹⁾。RQCは出芽酵母からヒトまで保存された普遍的な品質管理機構である。その初期段階ではE3ユビキチンリガーゼHel2（ヒトではZNF598）が停滞したリボソームを認識し、uS10を含む複数のリボソーム小サブユニットタンパク質をユビキチン化する（図1A①、②）²⁻⁸⁾。uS10に付加されたユビキチン鎖に、Slh1, Cue3, Rqt4からなる *ribosome-associated quality control trigger* (RQT；ヒトではASCC3, ASCC2, TRIP4からなるASC-1) 複合体がリクルートされ、Slh1/ASCC3のATPアーゼ活性依存的にリボソームが大・小サブユニットへ解離する（図1A③）⁹⁻¹²⁾。解離後の大サブユニットにLtn1, Rqc1, Rqc2, Cdc48（ヒトではLtn1, TCF25, NEMF, VCP）からなるRQC複合体が結合する¹³⁻¹⁷⁾。E3ユビキチ

ンリガーゼであるLtn1が新生ペプチド鎖上のリシン残基をユビキチン化し、またRqc2/NEMFは新生ペプチド鎖のC末端にアラニンとトレオニンからなるC-terminal alanine threonine (CAT) テイルもしくはアラニンのみからなるアラニン (Ala) テイルを付加する^{15, 18-22)}。最後に翻訳終結因子eRF1のホモログであるVms1/ANKZF1がペプチジル tRNAのCCA末端を切断し²³⁻²⁷⁾、ATPアーゼであるCdc48/VCPとその補因子Ufd1/UFD1およびNpl4/NPLOC4からなる複合体が新生ペプチド鎖をリボソームトンネルから引き抜き、プロテアソームへ輸送する（図1A④）^{14, 28, 29)}。

2) Hel2による衝突リボソームの認識とユビキチン化

Hel2はuS10, uS3, eS7など、リボソーム小サブユニット上の複数のタンパク質をユビキチン化するが、RQCの引き金となるのはuS10のユビキチン化である⁷⁾。停滞したリボソームのuS10に付加されたユビキチン鎖の連結様式はK63結合型であり、RQCにおけるペプチド鎖分解の前段階であるリボソームのサブユニット解離、すなわち翻訳の強制終了の目印となる。サブユニット解離は、リボソーム停滞を解消するとともに翻訳産物の分解を可能とし、異常翻訳の影響を最小限に抑えるための合理的な戦略である。

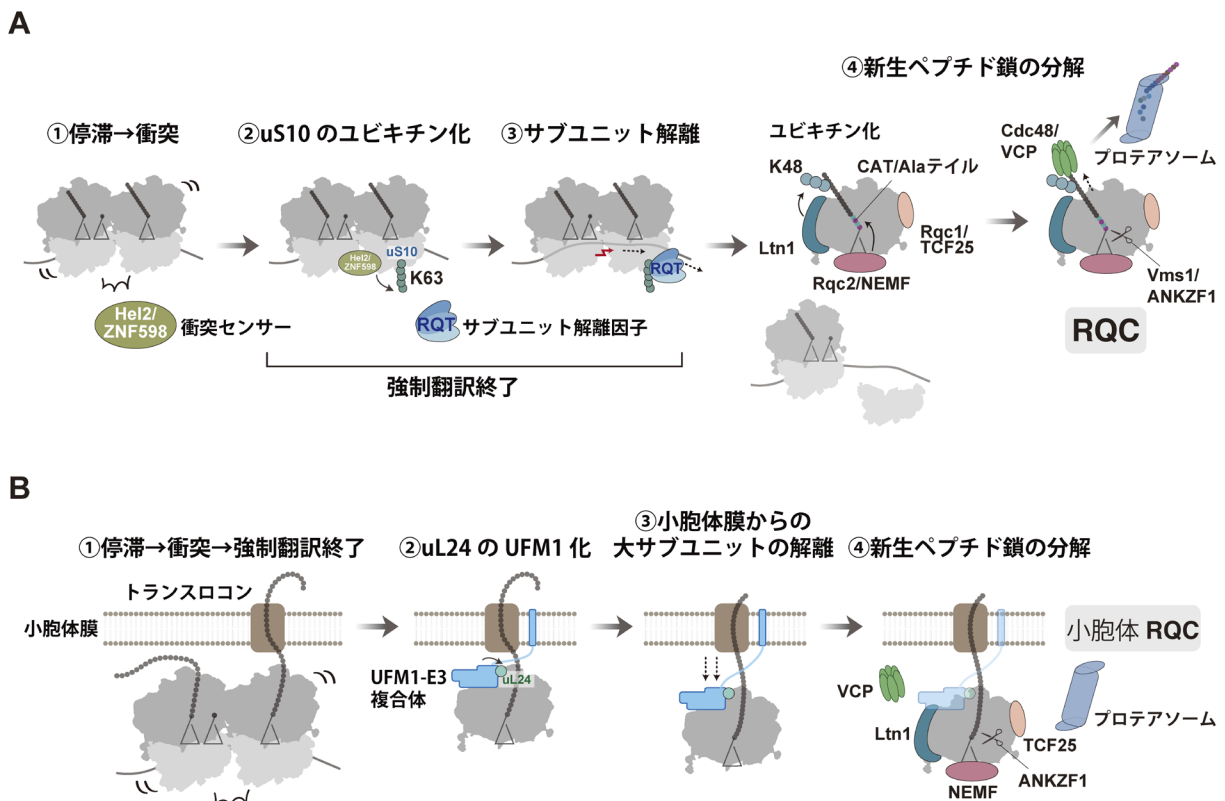


図1 停滞したリボソームに由来する新生ペプチド鎖の分解機構 RQC

(A) 出芽酵母からヒトまで保存されているRQCの各段階と各因子の機能（詳細は本文参照）。(B) 哺乳類の小胞体膜上で起こるRQCにはUFM1化が重要な役割を果たす。小胞体膜上での翻訳中に停滞・衝突したリボソームから解離した大サブユニットにUFL1-UFBP1-CDK5RAP3からなるE3複合体が結合する。E3複合体がトランスロコン近傍に位置するuL24にUFM1を連結すること（UFM1化）が合成途中の新生ペプチドの分解に必要である。uL24のUFM1化およびE3複合体の結合は、大サブユニットをトランスロコンから解放させる役割を担い、Ltn1による新生ペプチドのユビキチン化を可能とするモデルが考えられる。

ではリボソーム停滞はどのように感知されるのか？ 近年の生化学的および構造学的解析より、リボソームどうしの衝突が停滞の目印の一つとされることが明らかになってきた。クライオ電子顕微鏡を用いた解析では、翻訳効率が低いmRNA配列の導入や翻訳因子の活性阻害によって停滞したリボソームが後続のリボソームと衝突して形成する特徴的なdi-ribosome (disome) またはtri-ribosome (trisome) 構造が観察されている^{8, 11, 12, 30, 31}。出芽酵母の代表的なdisome構造では、二つのリボソームの小サブユニットタンパク質Asc1が衝突して直接相互作用しており、この相互作用がdisomeの構造を安定化していると考えられる⁸。重要なことに、RQCの初期段階でHel2のユビキチン化標的となるuS10は衝突部位の近傍に位置している。また、RQCを誘導する内在性停滞配列を持つ*SDD1* mRNAを試験管内で翻訳させ、リボソーム衝突を再現した実験系では、Hel2が単独に存在するリボソームよりもdisome, trisomeに優先的に結合してユビキチン化する¹²。これらの結果から、Hel2が衝突リボソームを認識する「衝突センサー」であることが強く示唆される(図1A①, ②)。興味深いことに、*SDD1* mRNA上で二つのリボソームが衝突して形成するdisomeと比較して、三つの衝突リボソームからなるtrisomeの方が、より効率的にユビキチン化される。Hel2はリボソームの衝突部位に結合し、衝突するリボソームの数に応じてリボソームとの親和性が変化する可能性が考えられる。しかし、Hel2自身の構造は決定されておらず、リボソームとの実際の結合様式およびユビキチン化活性の制御機構の詳細を今後明らかにしていく必要がある。

3) RQT複合体による衝突リボソームのサブユニット解離

RQT複合体は、RQCにおいて衝突したリボソームのサブユニット解離を触媒する因子である。出芽酵母のRQT複合体はATPアーゼ型のRNAヘリカーゼ活性を有するSlh1, ユビキチン結合ドメインCUEを持つCue3, 機能不明のC2HC5型ジンクフィンガードメインを持つRqt4から構成される。*SDD1* mRNAで衝突したtrisomeがRQT複合体およびATPの添加によってサブユニットに解離することが試験管で再現されており、特にSlh1のATP結合活性中心に位置する316番目のリシン残基がサブユニット解離に必須である¹²。最近、連続レアコドン配列で衝突したdisomeを用いた研究でも同様の結果が得られ、さらに先頭で停滞したリボソームにRQT複合体が結合した構造が決定された³²。リボソーム小サブユニットのヘッドがボディに対して反時計回りに20°回転した、サブユニット解離の中間状態とみなされる特殊な構造クラスが観察されている。ヘッドの回転はmRNAを3'側へ引っぱることによって起こると予想され、この引っぱる力はmRNAトンネルの入口付近に結合するSlh1のヘリカーゼ活性により加えられると推定される。結果として、停滞したリボソームのサブユニット会合の不安定化に加え、衝突してきた隣

接のリボソームの構造変化を引き起こす可能性がある。最終的に後続のリボソームがくさび(楔)のように先頭のリボソームのサブユニット間に突き刺さって解離させるというモデルが提唱されている(図1A③)。

Slh1がサブユニット解離に中心的な役割を果たすことが示された一方、Cue3, Rqt4の機能は十分に理解されていなかった。最近、RQT複合体とユビキチン鎖との結合アクセシにより、Cue3はCUEドメインを介して、Rqt4はN末端領域を介してK63結合型ポリユビキチン鎖(K63鎖)に特異的に結合することが明らかになった³³。RQT複合体を高速原子間力顕微鏡で観察すると、Cue3はSlh1から約10nmの範囲内に位置している一方、Rqt4の長い天然変性領域が触手のようにSlh1から約30nmの範囲内で激しく動く様子がみられる。このことから、RQT複合体は広い可動範囲を持つRqt4を用いてユビキチン鎖を走査し、Rqt4がリボソームの遠位側からK63鎖を識別し結合した後、Cue3が近位側からK63鎖に結合すると同時にSlh1をユビキチン化部位の近傍に固定する可能性が考えられる³³。

また近年、ヒトにおける内在性の停滞誘導配列を持つ*XBPlu* mRNA³⁴を用いて、リボソームの衝突からZNF598によるユビキチン化、ヒトRQT複合体(ASC-1)によるK63鎖の認識およびサブユニット解離までの多段階反応が試験管内で再構成された¹¹。特筆すべきことに、uS10だけでなく、出芽酵母にみられないeS10のユビキチン化も検出された。さらに、哺乳類と出芽酵母における衝突リボソーム構造、特に衝突部位の構造の違いも発見された。RQCの一般的な分子メカニズムは高度に保存されているが、哺乳類のリボソーム衝突とその解消は、進化上で出芽酵母に存在しない制御機構を獲得している可能性が示唆されている。

4) 新生ペプチド鎖への分解目印の付加

停滞したリボソームがサブユニットに解離後、大サブユニットに結合するLtn1によって、合成途上の新生ペプチド鎖にK48結合型ポリユビキチン鎖が付加され、これがプロテアソーム依存的分解の目印となる(図1A④)^{1, 14, 19, 35}。Ltn1が欠損した場合、出芽酵母のRqc2が小サブユニット、mRNAおよびGTPアーゼ非依存的に、新生ペプチド鎖のC末端にアラニンおよびトレオニンを付加する²⁰。この非典型的な翻訳反応はCATテイル付加と呼ばれており、リボソームトンネル内に埋もれていた新生ペプチド鎖上のリシン残基をリボソーム外に露出させることで、Ltn1によるユビキチン化を促進する機能を持つ³⁶。最近、大サブユニットに結合したRqc2の高解像度の構造が得られ、CATテイル付加反応は、①Rqc2によるtRNAのリクルート、②ペプチド転移反応、③転座様反応、④脱アシル化tRNAの解離、という四つの過程の繰り返しによって行われることが示唆された³⁷。なお、このときのペプチド転移反応には翻訳伸長因子eIF5Aが促進因子として働き、eIF5Aの結合がCATテイル付加に必要なリボ

ソーム大サブユニットの構造変化を引き起こすことが示された。

哺乳類においても、異常翻訳産物はLtn1によってユビキチン化されプロテアソーム依存的な分解へと導かれる¹⁵⁾。一方で、出芽酵母と異なり、Rqc2のホモログであるNEMFは新生ペプチド鎖にアラニンのみで構成されるAlaテイルを付加する^{21, 22)}。Alaテイルはデグロンとしての役割を担い、E3ユビキチンリガーゼであるKLHDC10およびPirh2が直接結合することによって新生ペプチド鎖の分解を誘導する^{38, 39)}。原核生物にもRqc2/NEMFのホモログが存在しており、たとえば枯草菌ではRqcHが新生ペプチド鎖にAlaテイルを付加し、ClpXPプロテアーゼによる分解を惹起する^{40, 41)}。このように、ユビキチン-プロテアソーム系を持たない細菌で利用されている異常翻訳産物分解の戦略がヒトにおいて一部保存されている点は非常に興味深い。

近年、ubiquitin-fold modifier 1 (UFM1) 化⁴²⁾ と呼ばれるユビキチン様修飾と哺乳類におけるタンパク質恒常性維持との関連が大きな注目を集めている。UFM1化を触媒するE3複合体であるUFL1-UFBP1-CDK5RAP3は小胞体膜に局在し、リボソーム大サブユニットタンパク質uL24のUFM1修飾を行う^{43, 44)}。ごく最近報告された構造解析から、大サブユニットに結合したE3複合体が、uL24のUFM1化依存的に粗面小胞体膜上のトランスロコンと大サブユニットとの間の相互作用を弱めることで、正常な翻訳終了後の大サブユニットを小胞体膜から解放させる機能を持つことが示唆されている^{45, 46)}。一方で、*XBPlu*などの小胞体膜上で翻訳されるmRNAでリボソームが停滞すると、翻訳を強制終了させ新生ペプチド鎖をLtn1依存的に分解する「小胞体RQC」が誘導される⁴⁷⁾。uL24のUFM1修飾が小胞体RQCに必須であることが最近判明し^{48, 49)}、強制翻訳終了時の大サブユニットの再利用および異常翻訳産物の排除にもUFM1化が重要な役割を担う可能性が十分考えられる(図1B)。UFM1化E3複合体の機能を詳細に解明することで、高等真核生物における多面的なRQC制御機構の理解が深まると期待される。

3. NGDとCOMD：異常翻訳基質の分解経路

1) リボソーム衝突によって引き起こされるmRNAの切断・分解機構

リボソーム停滞・衝突の要因としてmRNA上の停滞誘導配列が多数同定されている。連続した塩基性アミノ酸配列⁵⁰⁾、使用頻度の低いレアコドンの連続配列や特定のコードン対⁵¹⁻⁵⁴⁾、強固な二次構造を形成する配列^{55, 56)}を翻訳した場合、リボソームが停滞・衝突する。また酸化ストレス等によって損傷・修飾を受けたmRNA^{57, 58)}上でもリボソームが停滞するため、細胞は、リボソーム停滞を目印とし、異常mRNAを積極的に除去する品質管理機構を保持している。

出芽酵母では、衝突センサーHel2によるリボソームのユビキチン化は翻訳産物の分解系RQCだけでなく、mRNAの切断・分解系No-go Decay (NGD) も惹起する^{8, 59)}。NGDにおいて、衝突したリボソームの近傍でエンドヌクレアーゼCue2がmRNAを切断した後⁶⁰⁾、5′、3′切断産物がそれぞれ細胞質内のエキソヌクレアーゼであるエクソソームとXrn1によって分解される⁸⁾。NGDは、RQCと共役するか否かによって、NGD^{RQC+}とNGD^{RQC-}という二つの経路に分岐する^{8, 61)}(図2A)。NGD^{RQC+}はHel2によるuS10のユビキチン化を介したりボソームのサブユニット解離を必要とし、mRNAの切断部位が衝突したりボソーム内に存在する。uS10のユビキチン化もしくはサブユニット解離が阻害されると、代わりにeS7のユビキチン化に依存したNGD^{RQC-}が誘導され、このときmRNAはNGD^{RQC+}の場合よりも上流側で切断される。eS7のユビキチン化は、Ccr4-Not複合体(次項参照)の構成因子であるNot4による一つ目のユビキチンの付加(モノユビキチン化)と、Hel2によるK63鎖の伸長(ポリユビキチン化)からなる二段階反応である⁸⁾。

mRNA切断を担うCue2の立体構造はまだ解明されていないが、近年の遺伝学的解析により、Cue2のN末端領域が切断部位の選択性に重要であることが見いだされた⁶¹⁾。停滞誘導配列を持つmRNAの切断中間産物の末端をプライマー伸長法で決定し、異なるCue2変異体を発現した酵母株間で切断末端の位置を比較した結果、Cue2の122番目のトリプトファン残基が、衝突したりボソーム内でのmRNA切断(NGD^{RQC+})に必要であることが示された。一方で、Cue2のN末端領域に存在するユビキチン結合ドメインは、衝突したりボソームの上流でのmRNA切断(NGD^{RQC-})に必須であるが、リボソーム内でのmRNA切断(NGD^{RQC+})には必須でないことが明らかとなった。このようにCue2が切断部位を変えることで、リボソームのユビキチン化部位やサブユニット解離の状況に柔軟に対応できることは非常に興味深い。線虫や細菌においても、Cue2にも存在するmRNA切断活性中心であるSMRドメインを有する因子が、リボソーム停滞に起因するmRNA分解に寄与することが報告されている⁶²⁻⁶⁵⁾。哺乳類にも類似した機構が存在するかについては今後検証していく必要がある。

2) 非最適コドンにおけるリボソームの速度低下に起因するmRNAの不安定化機構

コドンの最適度はコドンの使用頻度と、各々のコドンに対応するtRNA量との関係を表す。個々のmRNAが持つ固有の安定性がコドンの最適度によって調節され、最適度高いコドン(最適コドン)を持つmRNAほど安定であり、最適度が低いコドン(非最適コドン)が多く存在するmRNAは不安定である⁶⁶⁾。出芽酵母を用いた研究より、コドンの最適度依存的なmRNAの安定性決定機構において、Ccr4-Not複合体が主要な制御因子として働くことが近年

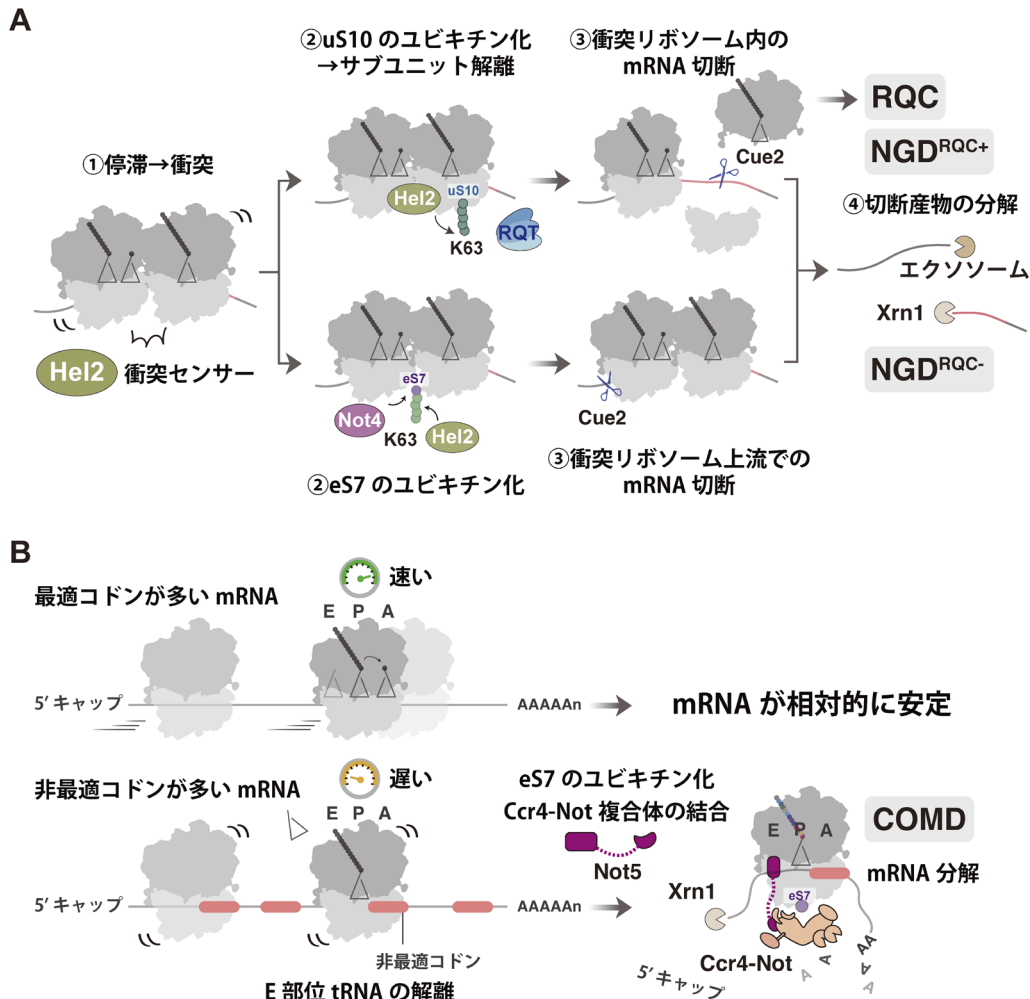


図2 リボソーム停滞に起因する mRNA の不安定化機構
 (A) リボソーム衝突を引き金とする mRNA の切断・分解系 NGD の分子機構モデル (詳細は本文参照). (B) コドンの最適性依存的な mRNA 不安定化機構 COMD の分子機構モデル. 空の E 部位に結合する Not5 を介して, Ccr4-Not 複合体が非最適コドンを翻訳中のリボソームにリクルートされ, mRNA 分解を促進する. 非最適コドンを多く保持する mRNA ほど COMD によって不安定化し, 逆に最適コドンを多く含む mRNA は相対的に安定に存在する.

明らかになった⁶⁷⁾.

Ccr4-Not 複合体は mRNA の転写, 分解, 翻訳抑制など, 遺伝子発現を多方面から制御する複合体であり, リボソームと直接結合する. Ccr4-Not 複合体と共精製されたりボソームによって翻訳される mRNA の配列特徴を調べる選択的リボソームプロファイリング解析では, Ccr4-Not 複合体とリボソームの親和性が A 部位に位置するコドンの最適性と非常に強い逆相関を示す⁶⁷⁾. また, Ccr4-Not 複合体の構成因子の一つである Not5 が, A 部位に tRNA を含まないリボソームの E 部位に結合することが構造解析で判明している. 非最適コドンを翻訳する際に, 対応する tRNA の量が少ないため, A 部位に tRNA が存在しない状態が長く継続し, 結果として E 部位に結合していた tRNA が解離する. このようなリボソームに Ccr4-Not 複合体が Not5 を介して結合することで, mRNA の 3' 末端のポリ A 鎖の短縮化および 5' 末端のキャップ構造の除去を促進し^{68, 69)}, mRNA 分解を誘導すると考えられる (図 2B). Not5 とリボソームの結合には, Not4 によるリボソームタンパク質

eS7 のユビキチン化が必要である. Not5 や Not4 の欠損株, eS7 のユビキチン部位の変異株では, コドンの最適性と mRNA の安定性との相関が失われ, mRNA の動的恒常性が破綻してしまう⁶⁷⁾. こうしたコドンの最適性により制御される mRNA 分解系は codon optimality-mediated mRNA decay (COMD) と名づけられた. 興味深いことに, 前述した mRNA の内部切断分解系である NGD^{RQC+} も Not4 による eS7 のユビキチン化を必要とする⁸⁾. 機序の異なる二つの mRNA 分解系の関係を解析することは, 翻訳と共役した mRNA 不安定化機構の全体像を理解する上で重要である. また, 試験管内再構成系では, Not5 のヒトホモログである CNOT3 が停滞した哺乳類リボソームの空の E 部位に結合し, Not4 のホモログである CNOT4 が eS7 をユビキチン化することが最近報告され⁷⁰⁾, COMD がヒトでも保存されている可能性が示唆されている.

4. NRD：異常翻訳装置の分解経路

1) 機能欠損リボソームサブユニットを分解する品質管理機構

mRNA上の停滞誘導配列のほか、翻訳装置であるリボソーム自身の機能欠損も異常翻訳の原因となりうる。出芽酵母では、活性中心を形成するリボソームRNA (rRNA) に塩基置換変異を導入すると、変異型rRNAを保持するリボソームサブユニットは *nonfunctional rRNA decay* (NRD) と呼ばれる機構によって分解・排除される⁷¹⁾。NRDには、大サブユニットのペプチド転移活性中心 (peptidyl-transferase center: PTC) を形成する25S rRNAを分解標的とする25S NRDと、小サブユニットの暗号解読活性中心 (decoding center: DC) を形成する18S rRNAを分解標的とする18S NRDが存在する。ここでは、分子機構がより詳細に解析されている18S NRDについて説明する。

18S NRDには翻訳が必要であり、暗号解読活性の欠失に起因する翻訳異常が引き金となる可能性が以前から示唆されていた⁷²⁾。近年、遺伝学的手法を用いた解析より18S NRDに必須な因子が新たに同定され、リボソームプロファイリング法によって18S NRDを惹起する翻訳異常の実体が解明されてきた⁷³⁻⁷⁵⁾。18S NRDのモデル基質である18S:A1755C (DC変異型) rRNAを保持する機能欠損リボソームは開始コドンで停滞し、E3ユビキチンリガー

ゼMag2とFap1によって認識される。Mag2とFap1はリボソーム小サブユニットタンパク質uS3を順次ユビキチン化し、RQT複合体依存的なサブユニット解離を誘導する。ユビキチン化された小サブユニットは最終的に分解へと導かれ、この過程にはmRNA分解を担うXrn1およびエクソソームが関与することが示唆されているが⁷²⁾、分解機構の詳細は明らかになっていない (図3)。

2) Mag2とFap1による停滞認識とユビキチン化

DC変異型18S rRNAを保持するリボソームを特異的に精製し、翻訳されているmRNAの領域を解析する選択的リボソームプロファイリングの結果、DCの活性が失われたリボソームのほとんどはA部位にtRNAを含んでおらず、P部位に開始コドンを位置させた状態で停滞していることが判明した⁷⁵⁾。機能欠損リボソームは2番目のコドンの解読ができず、翻訳伸長反応に移転できないことが示された。一般的に、開始コドンより上流には翻訳伸長中のリボソームが存在しないため、開始コドンでのリボソーム停滞は後続のリボソームとの衝突を伴わない「単独」の停滞となる。これは、前述したRQC, NGDの引き金であるリボソーム衝突とは異なる停滞認識機構の存在を示唆し、衝突センサー Hel2が欠損していてもDC変異型18S rRNAが分解される結果と一致している。一方、18S NRDに必須な因子を探索する遺伝学的スクリーニングによりMag2と

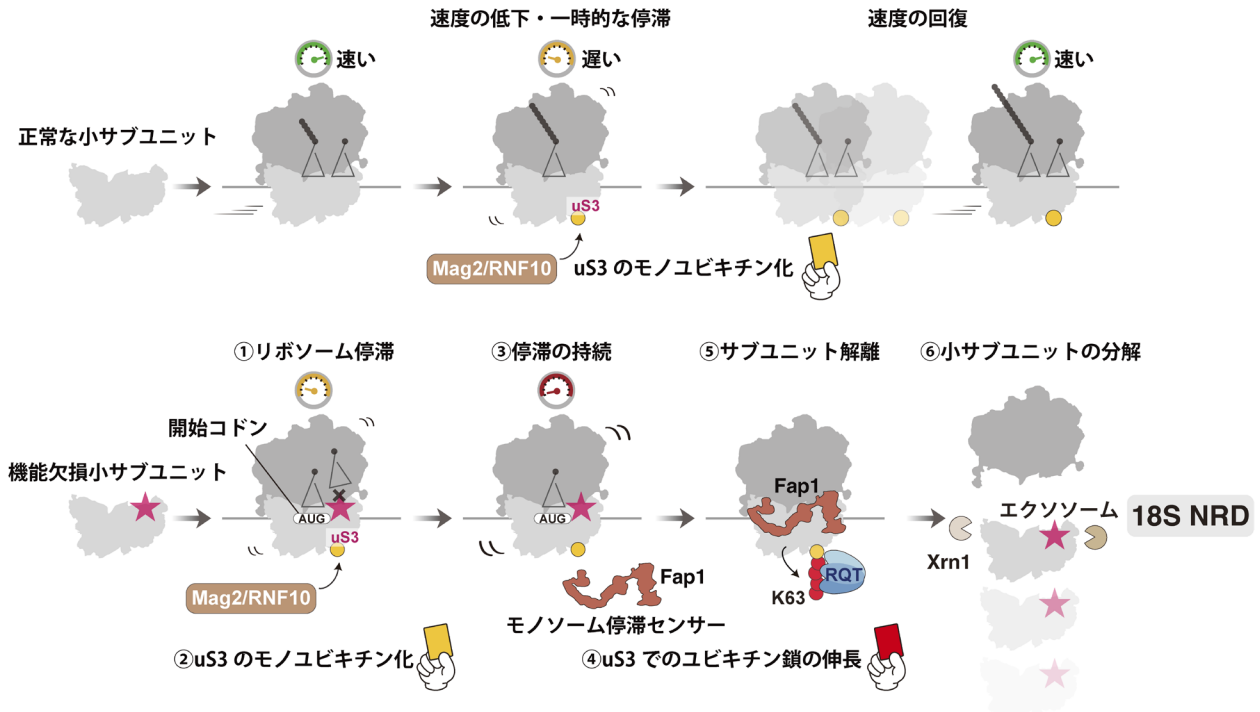


図3 機能欠損リボソーム小サブユニットの分解機構 18S NRD

異常翻訳装置を認識・分解する二重確認モデル。Mag2は翻訳速度の遅いリボソームを認識してuS3をモノユビキチン化し、異常翻訳装置の候補とする (イエローカード)。一時的に速度が低下し、その後翻訳を再開したりリボソームは、uS3でのポリユビキチン鎖が形成されず、分解の標的とならない。一方、開始コドンで停滞した機能欠損リボソームはuS3のモノユビキチン化を受けた後、依然として停滞が継続し、モノソーム停滞センサーであるFap1によって認識される。その結果、Fap1が停滞したリボソームを異常翻訳装置と判定し (レッドカード)、ユビキチン鎖を伸長し、サブユニット解離を経て小サブユニットの分解へと導く。

Fap1が同定され、これらのE3ユビキチンリガーゼが機能欠損リボソームのuS3をユビキチン化することが見いだされた。興味深いことに、試験管内のユビキチン化反応系では、Mag2がuS3にユビキチンを1分子のみ付加する^{74, 75)}。さらにFap1を添加するとユビキチン鎖が伸長しK63鎖が形成されるが、Fap1によるK63鎖の形成にはMag2による最初のユビキチン付加が前提となる⁷⁵⁾。

Mag2とFap1はいずれもリボソームに結合しており、停滞センサー因子の候補とされるが、二つの因子は異なる基質特異性を持つことが示唆されている⁷⁵⁾。Mag2, Fap1それぞれと共精製される内在性リボソームの特徴を選択的リボソームプロファイリングによって解析した結果、Mag2とリボソームとの親和性がA部位のコドンの最適度と逆相関することが示された。Mag2は非最適コドンを翻訳中のリボソームなど、速度が低下したリボソームを全般的に認識していると考えられる。そのメカニズムの解明には今後の詳細な解析が必要であるが、先述したNot5による失速リボソームの認識と類似した機構である可能性がある。

Mag2と異なり、Fap1とリボソームの結合は、開始コドン近傍や主にモノソームによって翻訳されるmRNA上など、隣接するリボソームの出現頻度が低い場所に集中する傾向があることが示された。mRNAが複数のリボソームで翻訳されるポリソームと、単独のリボソームで翻訳されるモノソームを比較した場合、Fap1はモノソームに対してより高い親和性を有する。クライオ電子顕微鏡を用いた解析の結果、Fap1が小サブユニット上のmRNAの入口と出口を連結する細長い構造をとり、両端のドメインがそれぞれmRNAと相互作用している様子が観察された⁷⁵⁾。翻訳伸長反応中のリボソームの構造変化とmRNAの相対的な動きがFap1との相互作用を破壊するため、リボソームが静止状態にあるときのみFap1の安定な結合が可能になると考えられる。また、RQCやNGDを誘導する衝突リボソームの構造と比較すると、リボソームどうしの衝突が停滞したリボソームへのFap1の結合を立体的に妨害することが示唆される。したがって、Fap1は単独のリボソーム上でmRNAの動きを感知し、衝突を伴わないリボソーム停滞に特化した「モノソーム停滞センサー」であると提唱された。

単独で停滞したリボソームは、衝突で形成される明確な構造的特徴を持たないため、正常な翻訳反応を行っているリボソームや、一時的に速度が低下したリボソームとの区別が難しい。また、大量のエネルギーを消費して合成された翻訳装置の分解は、細胞にとって高いコストとリスクを伴う。以上の知見を合わせると、停滞した機能欠損リボソームはMag2とFap1の両方に認識されて初めて分解の標的となる、という二重確認モデルが考えられる(図3)。Mag2は衝突の有無にかかわらず、翻訳速度の遅いリボソームをモノユビキチン化して異常翻訳装置の候補とする。その後、単独のリボソーム停滞が持続する場合にFap1が結合してユビキチン鎖を伸長させ、18S NRDを惹

起する。このようにユビキチン化が多段階で行われることは、二つの停滞センサー因子によって異常と判定された翻訳装置のみを排除する慎重な戦略といえる。

3) 機能欠損リボソームのサブユニット解離

18S NRDでは、uS3のユビキチン化がリボソームサブユニットの解離を促し、機能欠損小サブユニットの分解を誘導するとともに正常な大サブユニットの再利用を可能とする^{74, 75)}。解離因子であるRQT複合体の構成タンパク質Slh1の欠損株ではDC変異型18S rRNAが顕著に安定化し、uS3でのユビキチン鎖がRQT複合体をリクルートすることを示唆する結果が得られている⁷⁴⁾。これは、RQCとNGDを惹起するuS10でのユビキチン鎖と類似した役割であり、RQT複合体によるリボソームサブユニットの解離は、異常翻訳産物、基質、装置の分解系に共通して、翻訳品質管理機構にきわめて重要なステップであることを示唆している。RQT複合体が多様な停滞状態に適応できることが示されるが、その詳細な機序は不明である。衝突リボソームで提唱されているモデルとして、Slh1の活性依存的にmRNAが引っぱられると、後続のリボソームがくさびとして働いて先頭のリボソームのサブユニット解離を引き起こす。一方で、後続のリボソームが存在しない単独のリボソーム上では、RQT複合体が衝突リボソーム上とは異なる機序で働く想定される。また、RQT複合体以外のサブユニット解離因子として、翻訳終結因子eRF1-eRF3と相同性を持つDom34-Hbs1が18S NRDに部分的に寄与することが報告されている^{72, 74, 76)}。Dom34-Hbs1は空のA部位を持つリボソーム⁷⁷⁻⁸⁰⁾や翻訳に参加していないリボソーム⁸¹⁾を解離させる機能を果たすが、18S NRDにおける役割やRQT複合体との関連ははまだ不明である。機能欠損リボソームを基質として用いたサブユニット解離の試験管内再構成や構造解析で、新たなサブユニット解離機構が解明されることが期待される。

4) 停滞に起因するリボソーム分解系の一般性と保存性

リボソーム自身の機能欠損に限らず、さまざまなストレスによって18S NRDが誘導されることが示唆されている。出芽酵母では栄養枯渇、翻訳阻害、核酸損傷誘導といったリボソーム停滞の誘導条件下ではもちろん、mTOR阻害や小胞体ストレスなど、リボソーム停滞との直接的な関連が知られていないストレスもuS3のユビキチン化を促進する^{57, 82, 83)}。興味深いことに、一部のストレス時にみられるuS3のユビキチン化は衝突センサーHel2に依存しており、リボソーム衝突も小サブユニットの分解を引き起こしうる可能性が高い。また、試験管内では、Mag2がuS3をモノユビキチンした後、Hel2はFap1と同様にユビキチン鎖を伸長させる活性を有することが明らかとされている⁷⁴⁾。

ストレスによるuS3のユビキチン化の亢進は哺乳類細胞でも観察される^{82, 84-86)}。近年、Mag2のヒトホモログであるRNF10がuS3およびuS5のユビキチン化に必須であるこ

とが報告された^{85, 86)}。RNF10を過剰発現させると、ユビキチン化の上昇とともに、細胞内のリボソーム大サブユニットに対する小サブユニットの割合が低下する⁸⁵⁾。このことから、哺乳類においてもリボソームのユビキチン化に依存した小サブユニット特異的な分解系が存在することが強く示唆される。この分解系は、異常なリボソームを排除するだけでなく、ストレス時にリボソームサブユニットの量を調節し、ストレス応答の一環として機能する可能性がある。ストレス時の翻訳の状態や小サブユニットの寿命制御について解析していくことは、停滞に起因するリボソーム分解系の一般性の検証および生理的機能の理解に不可欠である。

5. おわりに

本稿では、異常翻訳であるリボソーム停滞を認識・解消するとともにその産物・基質・装置を分解する翻訳品質管理機構を紹介してきた。細胞はさまざまな停滞に効率よく対応するために、基質特異性の異なる停滞センサー因子を用いた複数の停滞感知機構を備えている。リボソーム停滞の様式が異常翻訳の原因を反映し、細胞は停滞の特徴に基づいて排除すべき「部品」を見極める能力を有する可能性がある。たとえば、翻訳伸長の最初段階に生じる異常である単独のリボソーム停滞は翻訳装置の品質不良を示している可能性が高いのに対して、mRNAの途中までの翻訳を前提とするリボソーム衝突は、翻訳基質の配列異常に起因することが多いと想定される。これに対応して、単独のリボソーム停滞はリボソーム自身を分解に導き、リボソーム衝突はmRNA・新生ペプチド鎖の分解を引き起こす。一方で、品質管理経路は互いに独立して実行されるとは限らない点に注意する必要がある。停滞センサー因子とリボソーム上のユビキチン化標的は多対多の関係性を持っており、ユビキチン化部位と品質管理経路の対応関係も単純ではない。リボソームのユビキチン化を目印とする複数の品質管理経路は高い共通性と柔軟性を持ち、細胞内の状況に応じて経路間のバランスが巧妙に制御されている可能性が考えられる。しかし、これまでの研究では主に、標的の異なる品質管理経路それぞれ独自のモデル基質に着目した解析が行われてきたため、品質管理経路間のクロストークについての知見が不足している。リボソーム停滞における翻訳産物・基質・装置を同時に追跡する手法が開発されれば、翻訳品質管理機構の全容の理解に大きく貢献できると期待される。

出芽酵母で発見された翻訳品質管理経路の多くは、その分子メカニズムがヒトまで保存されている。RQC関連遺伝子内の変異と神経変性疾患および自閉症との関連が示唆されており^{87, 88)}、マウスではRQCの機能喪失は神経細胞の発達障害や細胞死、行動異常を引き起こす^{89, 90)}。また、翻訳装置であるリボソームの異常は、造血不全や、皮膚の異常、腫瘍など、総じてリボソーム病と呼ばれる疾患

の原因となる⁹¹⁾。異常翻訳とその産物や装置を排除する機構の生理的機能の解明は、疾患発症機構を理解するための新たな切り口となる可能性が考えられる。さらに、翻訳基質であるmRNAの安定性制御機構の理解は、ワクチンに代表されるmRNA医薬品の開発研究の発展につながる と期待される。

文 献

- 1) Brandman, O., Stewart-Ornstein, J., Wong, D., Larson, A., Williams, C.C., Li, G.W., Zhou, S., King, D., Shen, P.S., Weibezahn, J., et al. (2012) A ribosome-bound quality control complex triggers degradation of nascent peptides and signals translation stress. *Cell*, **151**, 1042–1054.
- 2) Sitron, C.S., Park, J.H., & Brandman, O. (2017) Asc1, Hel2, and Slh1 couple translation arrest to nascent chain degradation. *RNA*, **23**, 798–810.
- 3) Sundaramoorthy, E., Leonard, M., Mak, R., Liao, J., Fulzele, A., & Bennett, E.J. (2017) ZNF598 and RACK1 regulate mammalian ribosome-associated quality control function by mediating regulatory 40S ribosomal ubiquitylation. *Mol. Cell*, **65**, 751–760. e4.
- 4) Juszkiwicz, S., Chandrasekaran, V., Lin, Z., Kraatz, S., Ramakrishnan, V., & Hegde, R.S. (2018) ZNF598 is a quality control sensor of collided ribosomes correspondence. *Mol. Cell*, **72**, 469–481.
- 5) Narita, M., Denk, T., Matsuo, Y., Sugiyama, T., Kikuguchi, C., Ito, S., Sato, N., Suzuki, T., Hashimoto, S., Machová, I., et al. (2022) A distinct mammalian disome collision interface harbors K63-linked polyubiquitination of uS10 to trigger hRQT-mediated subunit dissociation. *Nat. Commun.*, **13**, 1–16.
- 6) Garzia, A., Jafarnejad, S.M., Meyer, C., Chapat, C., Gogakos, T., Morozov, P., Amiri, M., Shapiro, M., Molina, H., Tuschl, T., et al. (2017) The E3 ubiquitin ligase and RNA-binding protein ZNF598 orchestrates ribosome quality control of premature polyadenylated mRNAs. *Nat. Commun.*, **8**, 1–10.
- 7) Matsuo, Y., Ikeuchi, K., Saeki, Y., Iwasaki, S., Schmidt, C., Udagawa, T., Sato, F., Tsuchiya, H., Becker, T., Tanaka, K., et al. (2017) Ubiquitination of stalled ribosome triggers ribosome-associated quality control. *Nat. Commun.*, **8**, 159.
- 8) Ikeuchi, K., Tesina, P., Matsuo, Y., Sugiyama, T., Cheng, J., Saeki, Y., Tanaka, K., Becker, T., Beckmann, R., & Inada, T. (2019) Collided ribosomes form a unique structural interface to induce Hel2-driven quality control pathways. *EMBO J.*, **38**, e100276.
- 9) Juszkiwicz, S., Speldewinde, S.H., Wan, L., Svejstrup, J.Q., & Hegde, R.S. (2020) The ASC-1 complex disassembles collided ribosomes correspondence II the ASC-1 complex disassembles collided ribosomes. *Mol. Cell*, **79**, 603–614.e8.
- 10) Hashimoto, S., Sugiyama, T., Yamazaki, R., Nobuta, R., & Inada, T. (2020) Identification of a novel trigger complex that facilitates ribosome-associated quality control in mammalian cells. *Sci. Rep.*, **10**, 3422.
- 11) Narita, M., Denk, T., Matsuo, Y., Sugiyama, T., Kikuguchi, C., Ito, S., Sato, N., Suzuki, T., Hashimoto, S., Machová, I., et al. (2022) A distinct mammalian disome collision interface harbors K63-linked polyubiquitination of uS10 to trigger hRQT-mediated subunit dissociation. *Nat. Commun.*, **13**, 1–16.
- 12) Matsuo, Y., Tesina, P., Nakajima, S., Mizuno, M., Endo, A., Buschauer, R., Cheng, J., Shounai, O., Ikeuchi, K., Saeki, Y., et al. (2020) RQT complex dissociates ribosomes collided on

- endogenous RQC substrate SDD1. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **27**, 323–332.
- 13) Lyumkis, D., Dos Passos, D.O., Tahara, E.B., et al. (2014) Structural basis for translational surveillance by the large ribosomal subunit-associated protein quality control complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 15981–15986.
 - 14) Defenouillère, Q., Yao, Y., Mouaikel, J., Namane, A., Galopier, A., Decourty, L., Doyen, A., Malabat, C., Saveanu, C., Jacquier, A., et al. (2013) Cdc48-associated complex bound to 60S particles is required for the clearance of aberrant translation products. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 5046–5051.
 - 15) Shao, S., Von der Malsburg, K., & Hegde, R.S. (2013) Listerin-dependent nascent protein ubiquitination relies on ribosome subunit dissociation. *Mol. Cell*, **50**, 637–648.
 - 16) Shen, P.S., Park, J., Qin, Y., Li, X., Parsawar, K., Larson, M.H., Cox, J., Cheng, Y., Lambowitz, A.M., Weissman, J.S., et al. (2015) Rqc2p and 60S ribosomal subunits mediate mRNA-independent elongation of nascent chains. *Science*, **347**, 75–78.
 - 17) Shao, S., Brown, A., Santhanam, B., & Hegde, R.S. (2015) Structure and assembly pathway of the ribosome quality control complex. *Mol. Cell*, **57**, 433–444.
 - 18) Shao, S. & Hegde, R.S. (2014) Reconstitution of a minimal ribosome-associated ubiquitination pathway with purified factors. *Mol. Cell*, **55**, 880–890.
 - 19) Bengtson, M.H. & Joazeiro, C.A.P. (2010) Role of a ribosome-associated E3 ubiquitin ligase in protein quality control. *Nature*, **467**, 470–473.
 - 20) Shen, P.S., Park, J., Qin, Y., Li, X., Parsawar, K., Larson, M.H., Cox, J., Cheng, Y., Lambowitz, A.M., Weissman, J.S., et al. (2015) Rqc2 and 60S ribosomal subunits mediated mRNA-independent elongation of nascent chains. *Science*, **347**, 75–78.
 - 21) Thrun, A., Garzia, A., Kigoshi-Tansho, Y., Patil, P.R., Umbaugh, C.S., Dallinger, T., Liu, J., Kreger, S., Patrizi, A., Cox, G.A., et al. (2021) Convergence of mammalian RQC and C-end rule proteolytic pathways via alanine tailing. *Mol. Cell*, **81**, 2112–2122.e7.
 - 22) Udagawa, T., Seki, M., Okuyama, T., Adachi, S., Natsume, T., Noguchi, T., Matsuzawa, A., & Inada, T. (2021) Failure to degrade CAT-tailed proteins disrupts neuronal morphogenesis and cell survival. *Cell Rep.*, **34**, 108599.
 - 23) Kuroha, K., Zinoviev, A., Hellen, C.U.T., & Pestova, T.V. (2018) Release of ubiquitinated and non-ubiquitinated nascent chains from stalled mammalian ribosomal complexes by ANKZF1 and Pth1. *Mol. Cell*, **72**, 286–302.e8.
 - 24) Su, T., Izawa, T., Thoms, M., Yamashita, Y., Cheng, J., Berninghausen, O., Hartl, F.U., Inada, T., Neupert, W., & Beckmann, R. (2019) Structure and function of Vms1 and Arb1 in RQC and mitochondrial proteome homeostasis. Structure and function of Vms1 and Arb1 in RQC and mitochondrial proteome homeostasis. *Nature*, **570**, 538–542.
 - 25) Verma, R., Reichermeier, K.M., Burroughs, A.M., Oania, R.S., Reitsma, J.M., Aravind, L., & Deshaies, R.J. (2018) Vms1 and ANKZF1 peptidyl-tRNA hydrolases release nascent chains from stalled ribosomes. *Nature*, **557**, 446–451.
 - 26) Zurita Rendón, O., Fredrickson, E.K., Howard, C.J., Van Vranken, J., Fogarty, S., Tolley, N.D., Kalia, R., Osuna, B.A., Shen, P.S., Hill, C.P., et al. (2018) Vms1p is a release factor for the ribosome-associated quality control complex. *Nat. Commun.*, **9**, 1–9.
 - 27) Izawa, T., Park, S.H., Zhao, L., Hartl, F.U., & Neupert, W. (2017) Cytosolic protein Vms1 links ribosome quality control to mitochondrial and cellular homeostasis. *Cell*, **171**, 890–903.e18.
 - 28) Brandman, O., Stewart-Ornstein, J., Wong, D., Larson, A., Williams, C.C., Li, G.W., Zhou, S., King, D., Shen, P.S., Weibezahn, J., et al. (2012) A ribosome-bound quality control complex triggers degradation of nascent peptides and signals translation stress. *Cell*, **151**, 1042–1054.
 - 29) Verma, R., Oania, R.S., Kolawa, N.J., & Deshaies, R.J. (2013) Cdc48/p97 promotes degradation of aberrant nascent polypeptides bound to the ribosome. *eLife*, **2**, e00308.
 - 30) Tesina, P., Lessen, L.N., Buschauer, R., Cheng, J., Wu, C.C., Berninghausen, O., Buskirk, A.R., Becker, T., Beckmann, R., & Green, R. (2020) Molecular mechanism of translational stalling by inhibitory codon combinations and poly(A) tracts. *EMBO J.*, **39**, e103365.
 - 31) Juskiewicz, S., Chandrasekaran, V., Lin, Z., Kraatz, S., Ramakrishnan, V., & Hegde, R.S. (2018) ZNF598 is a quality control sensor of collided ribosomes correspondence. *Mol. Cell*, **72**, 469–481.
 - 32) Best, K., Ikeuchi, K., Kater, L., Best, D., Musial, J., Matsuo, Y., Berninghausen, O., Becker, T., Inada, T., & Beckmann, R. (2023) Structural basis for clearing of ribosome collisions by the RQT complex. *Nat. Commun.*, **14**, 921.
 - 33) Matsuo, Y., Uchihashi, T., & Inada, T. (2023) Decoding of the ubiquitin code for clearance of colliding ribosomes by the RQT complex. *Nat. Commun.*, **14**, 1–12.
 - 34) Han, P., Shichino, Y., Schneider-Poetsch, T., Mito, M., Hashimoto, S., Udagawa, T., Kohno, K., Yoshida, M., Mishima, Y., Inada, T., et al. (2020) Genome-wide survey of ribosome collision. *Cell Rep.*, **31**, 107610.
 - 35) Shao, S. & Hegde, R.S. (2014) Reconstitution of a minimal ribosome-associated ubiquitination pathway with purified factors. *Mol. Cell*, **55**, 880–890.
 - 36) Kostova, K.K., Hickey, K.L., Osuna, B.A., Hussmann, J.A., Frost, A., Weinberg, D.E., & Weissman, J.S. (2017) CAT-tailing as a fail-safe mechanism for efficient degradation of stalled nascent polypeptides. *Science*, **357**, 414–417.
 - 37) Tesina, P., Ebine, S., Buschauer, R., Thoms, M., Matsuo, Y., Inada, T., & Beckmann, R. (2023) Molecular basis of eIF5A-dependent CAT tailing in eukaryotic ribosome-associated quality control. *Mol. Cell*, **83**, 607–621.e4.
 - 38) Wang, X., Li, Y., Yan, X., Yang, Q., Zhang, B., Zhang, Y., Yuan, X., Jiang, C., Chen, D., Liu, Q., et al. (2023) Recognition of an Ala-rich C-degron by the E3 ligase Pirh2. *Nat. Commun.*, **14**, 1–12.
 - 39) Patil, P.R., Burroughs, A.M., Misra, M., Cerullo, F., Costas-Insua, C., Hung, H.C., Dikic, I., Aravind, L., & Joazeiro, C.A.P. (2023) Mechanism and evolutionary origins of alanine-tail C-degron recognition by E3 ligases Pirh2 and CRL2-KLHDC10. *Cell Rep.*, **42**, 113100.
 - 40) Lytvynenko, I., Paternoga, H., Thrun, A., Balke, A., Müller, T.A., Chiang, C.H., Nagler, K., Tsaprailis, G., Anders, S., Bischofs, I., et al. (2019) Alanine tails signal proteolysis in bacterial ribosome-associated quality control. *Cell*, **178**, 76–90.e22.
 - 41) Filbeck, S., Cerullo, F., Paternoga, H., Tsaprailis, G., Joazeiro, C.A.P., & Pfeffer, S. (2021) Mimicry of canonical translation elongation underlies alanine tail synthesis in RQC. *Mol. Cell*, **81**, 104–114.e6.
 - 42) Komatsu, M., Chiba, T., Tatsumi, K., Iemura, S., Tanida, I., Okazaki, N., Ueno, T., Kominami, E., Natsume, T., & Tanaka, K. (2004) A novel protein-conjugating system for Ufm1, a ubiquitin-fold modifier. *EMBO J.*, **23**, 1977–1986.
 - 43) Walczak, C.P., Leto, D.E., Zhang, L., Riepe, C., Muller, R.Y., DaRosa, P.A., Ingolia, N.T., Elias, J.E., & Kopito, R.R. (2019)

- Ribosomal protein RPL26 is the principal target of UFMylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 1299–1308.
- 44) Wang, L., Xu, Y., Rogers, H., Saidi, L., Noguchi, C.T., Li, H., Yewdell, J.W., Guydosh, N.R., & Ye, Y. (2020) UFMylation of RPL26 links translocation-associated quality control to endoplasmic reticulum protein homeostasis. *Cell Res.*, **30**, 5–20.
 - 45) DaRosa, P.A., Penchev, I., Gumbin, S.C., Scavone, F., Wąchalska, M., Paulo, J.A., Ordureau, A., Peter, J.J., Kulathu, Y., Harper, J.W., et al. (2024) UFM1 E3 ligase promotes recycling of 60S ribosomal subunits from the ER. *Nature*, **627**, 445–452.
 - 46) Makhlof, L., Peter, J.J., Magnussen, H.M., Thakur, R., Millrine, D., Minshull, T.C., Harrison, G., Varghese, J., Lamoliatte, F., Foglizzo, M., et al. (2024) The UFM1 E3 ligase recognizes and releases 60S ribosomes from ER translocons. *Nature*, **627**, 437–444.
 - 47) Phillips, B.P. & Miller, E.A. (2020) Ribosome-associated quality control of membrane proteins at the endoplasmic reticulum. *J. Cell Sci.*, **133**, jcs251983.
 - 48) Ishimura, R., Ito, S., Mao, G., Komatsu-Hirota, S., Inada, T., Noda, N.N., & Komatsu, M. (2023) Mechanistic insights into the roles of the UFM1 E3 ligase complex in ufmylation and ribosome-associated protein quality control. *Sci. Adv.*, **9**, eadh3635.
 - 49) Scavone, F., Gumbin, S.C., Da Rosa, P.A., & Kopito, R.R. (2023) RPL26/uL24 UFMylation is essential for ribosome-associated quality control at the endoplasmic reticulum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **120**, e2220340120.
 - 50) Dimitrova, L.N., Kuroha, K., Tatematsu, T., & Inada, T. (2009) Nascent peptide-dependent translation arrest leads to Not4p-mediated protein degradation by the proteasome. *J. Biol. Chem.*, **284**, 10343–10352.
 - 51) Gamble, C.E., Brule, C.E., Dean, K.M., Fields, S., & Grayhack, E.J. (2016) Adjacent codons act in concert to modulate translation efficiency in yeast. *Cell*, **166**, 679–690.
 - 52) Letzring, D.P., Wolf, A.S., Brule, C.E., & Grayhack, E.J. (2013) Translation of CGA codon repeats in yeast involves quality control components and ribosomal protein L1. *RNA*, **19**, 1208–1217.
 - 53) Wolf, A.S. & Grayhack, E.J. (2015) Asc1, homolog of human RACK1, prevents frameshifting in yeast by ribosomes stalled at CGA codon repeats. *RNA*, **21**, 935–945.
 - 54) Chen, L., Muhrlad, D., Haurlyliuk, V., Cheng, Z., Lim, M.K., Shyp, V., Parker, R., & Song, H. (2010) Structure of the Dom34-Hbs1 complex and implications for no-go decay. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 1233–1240.
 - 55) Doma, M.K. & Parker, R. (2006) Endonucleolytic cleavage of eukaryotic mRNAs with stalls in translation elongation. *Nature*, **440**, 561–564.
 - 56) Tsuboi, T., Kuroha, K., Kudo, K., Makino, S., Inoue, E., Kashima, I., & Inada, T. (2012) Dom34: Hbs1 plays a general role in quality-control systems by dissociation of a stalled ribosome at the 3' end of aberrant mRNA. *Mol. Cell*, **46**, 518–529.
 - 57) Yan, L.L., Simms, C.L., McLoughlin, F., Vierstra, R.D., & Zaher, H.S. (2019) Oxidation and alkylation stresses activate ribosome-quality control. *Nat. Commun.*, **10**, 1–15.
 - 58) Simms, C.L., Hudson, B.H., Mosior, J.W., Rangwala, A.S., & Zaher, H.S. (2014) An active role for the ribosome in determining the fate of oxidized mRNA. *Cell Rep.*, **9**, 1256–1264.
 - 59) Doma, M.K. & Parker, R. (2006) Endonucleolytic cleavage of eukaryotic mRNAs with stalls in translation elongation. *Nature*, **440**, 561–564.
 - 60) D'Orazio, K.N., Wu, C.C.-C., Sinha, N., Loll-Krippelbein, R., Brown, G.W., & Green, R. (2019) The endonuclease Cue2 cleaves mRNAs at stalled ribosomes during No Go Decay. *eLife*, **8**, e49117–e49117.
 - 61) Tomomatsu, S., Watanabe, A., Tesina, P., Hashimoto, S., Ikeuchi, K., Li, S., Matsuo, Y., Beckmann, R., & Inada, T. (2023) Two modes of Cue2-mediated mRNA cleavage with distinct substrate recognition initiate no-go decay. *Nucleic Acids Res.*, **51**, 253–270.
 - 62) Glover, M.L., Burroughs, A.M., Monem, P.C., Egelhofer, T.A., Pule, M.N., Aravind, L., & Arribere, J.A. (2020) NONU-1 encodes a conserved endonuclease required for mRNA translation surveillance. *Cell Rep.*, **30**, 4321–4331.e4.
 - 63) Cerullo, F., Filbeck, S., Patil, P.R., Hung, H.C., Xu, H., Vornberger, J., Hofer, F.W., Schmitt, J., Kramer, G., Bukau, B., et al. (2022) Bacterial ribosome collision sensing by a MutS DNA repair ATPase paralogue. *Nature*, **603**, 509–514.
 - 64) Saito, K., Kratzat, H., Campbell, A., Buschauer, R., Burroughs, A.M., Berninghausen, O., Aravind, L., Green, R., Beckmann, R., & Buskirk, A.R. (2022) Ribosome collisions induce mRNA cleavage and ribosome rescue in bacteria. *Nature*, **603**, 503–508.
 - 65) Park, E.N., Mackens-Kiani, T., Berhane, R., Esser, H., Erdenebat, C., Burroughs, A.M., Berninghausen, O., Aravind, L., Beckmann, R., Green, R., et al. (2024) B. subtilis MutS2 splits stalled ribosomes into subunits without mRNA cleavage. *EMBO J.*, **43**, 484–506.
 - 66) Presnyak, V., Alhusaini, N., Chen, Y.H., Martin, S., Morris, N., Kline, N., Olson, S., Weinberg, D., Baker, K.E., Graveley, B.R., et al. (2015) Codon optimality is a major determinant of mRNA stability. *Cell*, **160**, 1111–1124.
 - 67) Buschauer, R., Matsuo, Y., Sugiyama, T., Chen, Y.H., Alhusaini, N., Sweet, T., Ikeuchi, K., Cheng, J., Matsuki, Y., Nobuta, R., et al. (2020) The Ccr4-Not complex monitors the translating ribosome for codon optimality. *Science*, **368**, eaay6912.
 - 68) Raisch, T. & Valkov, E. (2022) Regulation of the multisubunit CCR4-NOT deadenylase in the initiation of mRNA degradation. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **77**, 102460.
 - 69) Parker, R. (2012) RNA Degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, **191**, 671–702.
 - 70) Absmeier, E., Chandrasekaran, V., O'Reilly, F.J., Stowell, J.A.W., Rappsilber, J., & Passmore, L.A. (2023) Specific recognition and ubiquitination of translating ribosomes by mammalian CCR4-NOT. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **30**, 1314–1322.
 - 71) LaRiviere, F.J., Cole, S.E., Ferullo, D.J., & Moore, M.J. (2006) A late-acting quality control process for mature eukaryotic rRNAs. *Mol. Cell*, **24**, 619–626.
 - 72) Cole, S.E., LaRiviere, F.J., Merrikh, C.N., & Moore, M.J. (2009) A convergence of rRNA and mRNA quality control pathways revealed by mechanistic analysis of nonfunctional rRNA decay. *Mol. Cell*, **34**, 440–450.
 - 73) Limoncelli, K.A., Merrikh, C.N., & Moore, M.J. (2017) ASC1 and RPS3: New actors in 18S nonfunctional rRNA decay. *RNA*, **23**, 1946–1960.
 - 74) Sugiyama, T., Li, S., Kato, M., Ikeuchi, K., Ichimura, A., Matsuo, Y., & Inada, T. (2019) Sequential ubiquitination of ribosomal protein uS3 triggers the degradation of non-functional 18S rRNA. *Cell Rep.*, **26**, 3400–3415.e7.
 - 75) Li, S., Ikeuchi, K., Kato, M., Buschauer, R., Sugiyama, T., Adachi, S., Kusano, H., Natsume, T., Berninghausen, O., Matsuo, Y., et al. (2022) Sensing of individual stalled 80S ribosomes by Fap1 for nonfunctional rRNA turnover. *Mol. Cell*, **82**, 3424–3437.e8.
 - 76) van den Elzen, A.M.G., Henri, J., Lazar, N., Gas, M.E., Durand, D., Lacroute, F., Nicaise, M., van Tilbeurgh, H., Séraphin, B., & Graille, M. (2010) Dissection of Dom34-Hbs1 reveals indepen-

- dent functions in two RNA quality control pathways. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 1446–1452.
- 77) Tsuboi, T., Kuroha, K., Kudo, K., Makino, S., Inoue, E., Kashima, I., & Inada, T. (2012) Dom34: Hbs1 Plays a general role in quality-control systems by dissociation of a stalled ribosome at the 3' end of aberrant mRNA. *Mol. Cell*, **46**, 518–529.
- 78) Chen, L., Muhrad, D., Haurlyuk, V., Cheng, Z., Lim, M.K., Shyp, V., Parker, R., & Song, H. (2010) Structure of the Dom34-Hbs1 complex and implications for no-go decay. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 1233–1240.
- 79) Becker, T., Armache, J.-P., Jarasch, A., Anger, A.M., Villa, E., Sieber, H., Motaal, B.A., Mielke, T., Berninghausen, O., & Beckmann, R. (2011) Structure of the no-go mRNA decay complex Dom34-Hbs1 bound to a stalled 80S ribosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **18**, 715–720.
- 80) Hilal, T., Yamamoto, H., Loerke, J., Bürger, J., Mielke, T., & Spahn, C.M. (2016) Structural insights into ribosomal rescue by Dom34 and Hbs1 at near-atomic resolution. *Nat. Commun.*, **7**, 1–8.
- 81) Van Den Elzen, A.M.G., Schuller, A., Green, R., & Séraphin, B. (2014) Dom34-Hbs1 mediated dissociation of inactive 80S ribosomes promotes restart of translation after stress. *EMBO J.*, **33**, 265–276.
- 82) Jung, Y., Kim, H.D., Yang, H.W., Kim, H.J., Jang, C.Y., & Kim, J. (2017) Modulating cellular balance of Rps3 mono-ubiquitination by both Hel2 E3 ligase and Ubp3 deubiquitinase regulates protein quality control. *Exp. Mol. Med.*, **49**, e390.
- 83) Matsuki, Y., Matsuo, Y., Nakano, Y., Iwasaki, S., Yoko, H., Udagawa, T., Li, S., Saeki, Y., Yoshihisa, T., Tanaka, K., et al. (2020) Ribosomal protein S7 ubiquitination during ER stress in yeast is associated with selective mRNA translation and stress outcome. *Sci. Rep.*, **10**, 1–15.
- 84) Higgins, R., Gendron, J.M., Rising, L., Mak, R., Webb, K., Kaiser, S.E., Zuzow, N., Riviere, P., Yang, B., Fenech, E., et al. (2015) The unfolded protein response triggers site-specific regulatory ubiquitylation of 40S ribosomal proteins. *Mol. Cell*, **59**, 35–49.
- 85) Garshott, D.M., An, H., Sundaramoorthy, E., Leonard, M., Vicary, A., Harper, J.W., & Bennett, E.J. (2021) iRQC, a surveillance pathway for 40S ribosomal quality control during mRNA translation initiation. *Cell Rep.*, **36**, 109642.
- 86) Garzia, A., Meyer, C., & Tuschl, T. (2021) The E3 ubiquitin ligase RNF10 modifies 40S ribosomal subunits of ribosomes compromised in translation. *Cell Rep.*, **36**, 109468.
- 87) Krumm, N., Turner, T.N., Baker, C., Vives, L., Mohajeri, K., Witherspoon, K., Raja, A., Coe, B.P., Stessman, H.A., He, Z.X., et al. (2015) Excess of rare, inherited truncating mutations in autism. *Nat. Genet.*, **47**, 582–588.
- 88) Martin, P.B., Kigoshi-Tansho, Y., Sher, R.B., Ravenscroft, G., Stauffer, J.E., Kumar, R., Yonashiro, R., Müller, T., Griffith, C., Allen, W., et al. (2020) NEMF mutations that impair ribosome-associated quality control are associated with neuromuscular disease. *Nat. Commun.*, **11**, 1–12.
- 89) Chu, J., Hong, N., Masuda, C.A., Jenkins, B.V., Nelms, K.A., Goodnow, C.C., Glynne, R.J., Wu, H., Masliah, E., Joazeiro, C.A., et al. (2009) A mouse forward genetics screen identifies LISTERIN as an E3 ubiquitin ligase involved in neurodegeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 2097–2103.
- 90) Endo, R., Chen, Y.K., Burke, J., Takashima, N., Suryawanshi, N., Hui, K.K., Miyazaki, T., & Tanaka, M. (2023) Dysregulation of ribosome-associated quality control elicits cognitive disorders via overaccumulation of TTC3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **120**, e2211522120.
- 91) Narla, A. & Ebert, B.L. (2010) Ribosomopathies: Human disorders of ribosome dysfunction. *Blood*, **115**, 3196–3205.

著者寸描

●李 思涵 (り しかん)

東京大学医科学研究所RNA制御学分野 助教. 博士 (薬科学).

■略歴 2018年東北大学薬学部創薬科学科卒業. 23年同大学院薬学研究科生命薬科学専攻博士課程修了. 23年より現職.

■研究テーマと抱負 翻訳異常に起因するリボソーム分解系の分子メカニズムについて研究しています. リボソームの使用状況と安定性との関連を明らかにし, 翻訳装置の老朽化と廃棄の仕組みを理解したいです.

■趣味 涼しい時期に散歩, たまにピアノ.