

植物 mRNA における上流 ORF の関与する翻訳制御機構の解析

応用分子生物学講座 分子生物学分野

小山博彰

<背景と目的>

真核生物 mRNA にはタンパク質をコードする main ORF の 5' 非翻訳領域に upstream ORF (uORF) と呼ばれる短い読み枠が存在することがある。uORF の中には uORF ペプチドが main ORF の翻訳制御に関与するものがある。これまでに植物においては uORF ペプチドの関与する翻訳制御の例が 2 例しか知られていないため、uORF ペプチドによる制御の新たな例の探索と uORF ペプチドによる翻訳制御機構の解析を行った。

<方法>

シロイヌナズナ培養細胞 MM2d を用いた一過的発現系により解析を行った。双子葉植物間でペプチド配列が広く保存されている uORF の下流にレポーター遺伝子をつないだコンストラクトを作成し、MM2d プロトプラストへ導入した。uORF にアミノ酸置換変異を導入したコンストラクトと野生型コンストラクトのレポーター活性を比較することにより、uORF ペプチドによる制御機構を解析した。

<結果および考察>

一過的発現解析の結果、2 つの遺伝子が uORF ペプチド依存的に翻訳制御に関与することを明らかにした。OTLD1 uORF において翻訳制御に重要なアミノ酸配列を同定した。また OTLD1 uORF による翻訳制御は uORF の塩基配列ではなくアミノ酸配列に依存することも明らかにした。

POPTR_0013s10040 は 4 つの uORF を有するが、このうちの 2 つの uORF のみが翻訳制御に関与することが分かった。また制御に関与する 2 つの uORF のうち 1 つ目の uORF が main ORF の翻訳を正に、2 つ目の uORF が負に、それぞれ制御を行うことが分かった。これら 2 つの uORF については翻訳制御に重要なアミノ酸配列を同定した。さらに、2 つ目の uORF に複数存在する Met コドン置換した解析結果から、1 つ目の uORF を翻訳したリボソームは 2 つ目の uORF の翻訳も行うことが示唆された。