

シロイヌナズナの塩ストレス応答遺伝子における

上流 ORF による発現制御機構の研究

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学分野 村上佳鈴

1. 背景

遺伝子発現の翻訳段階における制御の一つとして, upstream ORF (uORF) による制御がある。真核生物の mRNA は, 通常, タンパク質情報をコードする ORF を一つしか持たないが, 約 30% の mRNA には uORF が存在し, uORF のアミノ酸配列が進化的によく保存されているとき, uORF にコードされる新生ペプチド (uORF ペプチド) が下流 ORF の翻訳制御に関与することがある。本研究では, uORF ペプチドによって翻訳が制御される遺伝子である *CIPK6* 遺伝子の発現制御機構の更なる解明を目指した。

2. 方法

シロイヌナズナの培養細胞 MM2d を用いた一過的発現系により解析を行った。*CIPK6* 遺伝子の 5'非翻訳領域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。*CIPK6* 5'非翻訳領域に様々な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 ペプチドによる翻訳制御機構を解析した。

3. 結果と考察

CIPK6 遺伝子の mRNA にはオーバーラップした二つの uORF (uORF1, uORF2) が存在する。一過的発現解析の結果, 以下のことが明らかとなった。第一に, uORF2 のペプチド配列依存的に翻訳が抑制されることが示された。第二に, uORF2 のアミノ酸配列中, 進化的に保存されているアミノ酸が, 翻訳抑制に関与することが分かった。第三に, uORF2 ペプチドは下流 ORF の翻訳抑制にシスに働いていることが示された。第四に, uORF2 の終止コドンのアミノ酸のコードンを置換した場合に, アミノ酸の種類によって翻訳抑制効果に顕著に違いが見出された。第五に, uORF1 は uORF2 による翻訳抑制を緩和するが, その際に, リイニシエーション (再翻訳) が関与することが示唆された。

4. まとめ

本研究により, *CIPK6* 遺伝子の二つの uORF による翻訳制御の詳細な機構が明らかとなった。*CIPK6* 遺伝子にコードされる *CIPK6* は塩ストレスに応答して発現が上昇する。これら uORF による制御機構を改変することで, 耐塩性植物の作出が期待される。