

シスタチオニン γ -シンターゼ遺伝子の翻訳アレストにおける

新生ペプチドとリボソーム出口トンネルに関する研究

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 大橋 悠文

1. はじめに

シスタチオニン γ -シンターゼ (CGS) は高等植物におけるメチオニン生合成経路の鍵段階を触媒する酵素である。シロイヌナズナにおいて CGS をコードする *CGS1* 遺伝子の発現はメチオニンの代謝産物である *S*-アデノシル-L-メチオニン (SAM) に応答して, mRNA の安定性の段階で負にフィードバック制御される。この制御は翻訳中に起こり, *CGS1* 第 1 エキソン内の制御領域 (MT01 領域) をリボソームが翻訳した直後, SAM に応答して 94 番目のセリンでリボソームが停滞 (翻訳アレスト) し, これが引き金となって *CGS1* mRNA が分解される。また, 翻訳されたばかりの MT01 領域を含む新生ペプチドは, リボソーム出口トンネル内に存在し, 94 番目のセリンを翻訳した時に SAM に応答して収縮した構造をとることが分かっている。

リボソーム出口トンネルには 2 つのリボソームタンパク質 uL22, uL4 によって狭く絞りこまれた領域 (狭窄部位) が存在する。SAM に応答した翻訳アレストにはリボソーム出口トンネル中で収縮した新生ペプチドとリボソームとの相互作用が重要であると考えられるが, 新生ペプチドとリボソーム出口トンネルの関係は明らかになっていない。本研究では, リボソーム出口トンネル狭窄部位に変異を持つシロイヌナズナを用いて *CGS1* 制御に与える影響を解析した。

2. 方法

リボソームタンパク質 uL4 の一部のアミノ酸を欠失させた変異体 (Δ TV: 75-Thr, 79-Val の欠失) において, 変異型リボソームタンパク質に付加した FLAG タグを検出することにより, 変異型リボソームの発現量と機能を解析した。また, 変異体由来のシロイヌナズナ試験管内翻訳抽出液 (Arabidopsis Cell-free Extract: ACE) を調製し, 試験管内翻訳を行うことで *CGS1* の翻訳アレストに与える影響を調べた。さらに, 新生ペプチドに導入したシステイン残基へのポリエチレングリコールマレイミドのアクセシビリティを解析することにより (ペジレーションアッセイ), 翻訳アレストにともなう新生ペプチドの収縮とリボソームタンパク質 uL4 との関係性を調べた。

3. 結果と考察

変異体において, 野生型のリボソームとともに導入した Δ TV 変異型リボソームが発現していることがわかった。試験管内翻訳系を用いた解析の結果, Δ TV 変異体では翻訳アレストにより生じた産物の割合が低下した。変異型リボソームに付加した FLAG タグを介して変異型リボソームの割合を増加させると, 翻訳アレスト産物の蓄積への影響がさらに強まった。また, ペジレーションアッセイの結果, Δ TV 型リボソームでは 94 番目のセリンで起こるペプチドの収縮が起こりにくくなった。これらの結果から, Δ TV 型リボソームでは SAM に応答したペプチドの収縮と翻訳アレストが起きないということが示唆される。

4. まとめ

上記の結果をまとめ, *CGS1* の新生ペプチドが SAM に応答してリボソームタンパク質 uL4 を介して収縮することにより, 翻訳アレストがおきるというモデルを提唱する。