

試験管内翻訳系における翻訳効率と翻訳アレストの関係

農学院生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 田口 紘太郎

1. はじめに

シロイヌナズナのみチオニン生合成経路の鍵段階を触媒するシスタチオニン- γ -シクターゼ(CGS)の翻訳時には最終産物であるS-アデノシルメチオニンが *cis* に働き、負のフィードバック制御により翻訳の一時停止(アレスト)が起こることが確認されている。カルスを用いた *in vivo* の実験では、メチオニンが十分に存在する環境において翻訳アレストが起きた mRNA は poly(A) 鎖が短縮されると迅速に分解される可能性が示されている。また、*in vitro* における研究では、poly(A) 鎖長差が翻訳アレストに影響を及ぼしている可能性が示唆されていた。本研究では poly(A) 鎖長による翻訳効率こそが翻訳アレスト効率に影響を与えている可能性について調査を実施した。また、翻訳効率は、5' 非翻訳領域(5' -UTR)の配列の影響も受けることが知られている。*in vitro* 系において翻訳させた場合に少量の翻訳産物しか確認されていない *CIPK6* 遺伝子や *OTLD1* 遺伝子の uORF(upstream open reading frame) について解析を行った。

2. 方法

GST-CGS1 exon1-poly(A) に Kozak 配列を導入したコンストラクトを用いて試験管内翻訳系ウェスタン解析を行い、poly(A) 鎖長や mRNA 鎖長に依存しない翻訳効率と翻訳アレスト効率の関係を調査した。また、*CIPK6* と *OTLD1* の uORF と 3' -UTR を延長したコンストラクトをそれぞれ作成し、ウェスタン解析にて翻訳産物の蓄積量を比較した。

3. 結果と考察

翻訳効率が高いコンストラクトは低いものと比較して翻訳アレスト効率のピーク時間が遅かった。このことから、翻訳効率が高い場合には翻訳アレストが起こりにくいもしくは翻訳アレストが素早く解消されるものと考えられる。*CIPK6* と *OTLD1* における uORF の翻訳産物の蓄積は、uORF の塩基長を延長することにより増大したが、3' -UTR を延長した場合は変化が見られなかった。このことから、mRNA 全長や 3' -UTR の塩基長ではなく、uORF の塩基長に影響されると考えられる。

4. まとめ

今後の課題として、翻訳アレストが起こる際のリボソームの動向についてより研究を進めたい。uORF の挿入やアレスト部位下流への IRES 配列の挿入などにより、リボソームの翻訳を可逆的に疎外することでアレスト効率に変化が見られるか研究したい。