

# 植物 mRNA における、上流 ORF による遺伝子発現制御の解析

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 工藤 凜

## 1. 背景と目的

真核生物 mRNA の約 20~30%には upstream ORF (uORF)が存在する。一般的に、uORF を翻訳したリボソームは、その終始コドンにおいて mRNA から解離する。しかし、uORF を翻訳したリボソームが mRNA 上で停滞する例や、あるいは mRNA 上にとどまってスキヤニングを行い、下流の ORF で翻訳を再開する例も知られている。

本研究では、*ANAC082* 遺伝子において、上記のような uORF による発現制御への役割の解明を目指した。また、*POPTR\_0013s10040* 遺伝子は複数の uORF をもっており、主要 ORF の発現制御におけるそれぞれの uORF の役割について解析した。

## 2. 方法

シロイヌナズナ植物体を使った解析では、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製し、シロイヌナズナ植物体へ形質転換してレポーター活性を解析することで、翻訳制御の程度を調べた。

シロイヌナズナ培養細胞 MM2d を使った解析においても、同様に作製したコンストラクトを MM2d プロトプラストへ一過的に導入した。そしてレポーター活性を比較することにより、uORF による制御機構を解析した。

## 3. 結果および考察

*ANAC082* 遺伝子は細胞増殖を負に制御し、公共マイクロアレイの結果から、UV-B ストレスに応答して発現が上昇することが示唆されていた。実際に UV-B 照射を植物体へ行ったら、発現量が上昇しており、さらにその発現の過程において、uORF がペプチド配列依存的に、下流にある主要 ORF の翻訳を制御していることが示された。

*POPTR\_0013s10040* は 4 つの uORF を有するが、このうちの 2 つの uORF が翻訳制御に主に関与することを、一過的発現解析によって明らかにした。特に、二つ目の uORF が下流にある主要 ORF の翻訳を抑制し、一つ目の uORF はその抑制効果を緩和していることを明らかにした。この機構について、一つ目の uORF が、二つ目の uORF の翻訳効率の制御に関わっている可能性が示唆された。