

細胞増殖と関連した上流 ORF による翻訳制御の解析

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 大角 有里沙

1. はじめに

遺伝子発現の制御は様々な段階で行われ、中でも翻訳段階における制御はタンパク質の発現量を迅速に制御できるという点で非常に重要である。翻訳制御機構の1つとして **upstream ORF (uORF)** という、5' 非翻訳領域に存在する短い読み枠による制御が挙げられる。uORF は、真核生物の mRNA の約 30% に存在し、一部の uORF はアミノ酸配列依存的に下流の主要な ORF の翻訳を抑制していることがわかっている。そのような翻訳制御を受ける遺伝子としてシロイヌナズナの **AT3G15430** 遺伝子が挙げられる。

AT3G15430 は、動物の *regulator of chromosome condensation 1 (RCC1)* 遺伝子と相同性があり、細胞周期の S 期で mRNA の発現量が増加するということから、細胞増殖に関与することが予想された。そこで本研究では **AT3G15430** の uORF の細胞増殖における働きを解析した。

2. 方法

シロイヌナズナ培養細胞に 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導入し、一過的に発現させることで uORF のアミノ酸配列の変異によるレポーター遺伝子の発現への影響を調べた。また、同様のコンストラクトをシロイヌナズナおよびタバコ培養細胞に導入し、形質転換体を作成した。それらの形質転換体を用いて増殖との関係を調べた。

3. 結果と考察

シロイヌナズナ培養細胞を用いた実験において、uORF のペプチド配列の中で翻訳抑制に重要な領域を同定するとともに、ペプチド配列がシスに働くことを明らかにした。形質転換シロイヌナズナの実験では、構成的に発現させた場合よりも分裂組織が盛んな細胞で発現させた場合の方が、uORF による翻訳制御が強いという結果が得られた。また、形質転換タバコ培養細胞の実験ではオーキシン阻害剤である PEO-IAA を添加して細胞増殖を抑制すると、uORF による翻訳抑制が緩和されるという結果がえられた。これらのことから細胞増殖が盛んな条件では、uORF による翻訳抑制が強いということが示唆された。

4. まとめ

今までに機能が明らかにされている uORF のアミノ酸配列依存的な翻訳制御の多くは代謝酵素遺伝子のフィードバック制御であるが、本研究ではじめて細胞増殖と関連した翻訳制御機構が見いだされた。