

選択的スプライシングと上流 ORF による翻訳制御を介した植物の核小体ストレス応答機構

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 佐々木 駿

1. 背景と目的

真核生物の mRNA には、5'非翻訳領域に上流 ORF(uORF)と呼ばれる短い ORF を持つものが存在し、この uORF にコードされるペプチドが下流の主要 ORF の翻訳制御に関与する例が報告されている。発表者の所属する研究室ではこれまでに、進化的に保存されたペプチド配列を持つシロイヌナズナの uORF の中から、ペプチド配列依存的に主要 ORF の翻訳を抑制するものを 11 個同定した。そのような uORF を持つ遺伝子の 1 つである *ANAC082* 遺伝子は、リボソーム合成の異常によって生じる核小体ストレスへの応答に重要な役割を担う転写活性化因子をコードする。本研究では、核小体ストレスに応答した *ANAC082* の発現制御に uORF が関与する可能性を検討した。

2. 方法

ANAC082 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形質転換したシロイヌナズナに対し、核小体ストレスを引き起こす化合物であるアクチノマイシン D および 5-フルオロウラシルで処理した。これらの薬剤に応答したレポーター活性の変動を調べることで、uORF による翻訳抑制にどのような変化が生じるのかを評価した。また、ゲノム編集により *ANAC082* uORF 配列に変異を導入して翻訳抑制能を欠損させた植物体を作成し、生育に及ぼす変異の影響を調べた。

3. 結果および考察

核小体ストレス源の添加実験において、*ANAC082* uORF による翻訳抑制が緩和され、主要 ORF の翻訳が促進された。また、uORF の配列に変異が生じたゲノム編集植物では、その翻訳抑制能力が緩和され、植物体の生育が抑制されることが示された。この生育抑制は *ANAC082* の過剰発現を誘導した植物体においても見られた。以上の結果から、この uORF は通常条件では *ANAC082* タンパク質の発現を抑制しているが、核小体ストレス条件下ではその抑制が緩和され、*ANAC082* タンパク質の発現が促進による植物の生育抑制が引き起こされていると考えられる。

さらに、*ANAC082* mRNA の 5'非翻訳領域の配列について調べたところ、核小体ストレス条件下では、この領域において選択的スプライシングが起こっていることが確認された。この選択的スプライシングによって、uORF が取り除かれた *ANAC082* mRNA のスプライシングバリエントが蓄積し、*ANAC082* の発現が促進されるメカニズムが示唆された。本研究により、植物における核小体ストレスの感知は、選択的スプライシングによる uORF の翻訳抑制の解除によってなされているという新たな知見が得られた。