



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the Ribosomal Translation Arrest Coupled with mRNA Degradation in CGS1 Gene of Arabidopsis thaliana [an abstract of entire text]
Author(s)	山下, 由衣
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。【担当：理学・生命科学事務 部図書担当】 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11410号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56339
Type	doctoral thesis
File Information	Yui_Yamashita_summary.pdf



学 位 論 文 の 要 約

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 山下 由衣

学 位 論 文 題 名

Studies on the Ribosomal Translation Arrest Coupled with mRNA Degradation
in *CGS1* Gene of *Arabidopsis thaliana*

(シロイヌナズナ *CGS1* 遺伝子におけるリボソームの翻訳アレストと共役した
mRNA 分解機構の研究)

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。シロイヌナズナの 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*-アデノシルメチオニン (AdoMet) に応答して、mRNA 分解の段階でフィードバック制御を受ける。この制御では、AdoMet が引き起こす *CGS1* mRNA 上でのリボソームの翻訳伸長反応の停止（翻訳アレスト）が mRNA 分解のトリガーとなり、翻訳アレストを起こしたリボソームの近傍で *CGS1* mRNA が切断されると考えられている。しかしながら、*CGS1* mRNA 上で起こる翻訳アレストが、いかにして mRNA 分解につながるのかは未解明である。本研究は、翻訳アレストから mRNA 分解に至る過程でのリボソームと *CGS1* mRNA の動態を明らかにしたものである。

第 1 章では、序論として AdoMet に応答した *CGS1* 遺伝子発現のフィードバック制御について、これまでに得られている知見をまとめた。

第 2 章では、*CGS1* mRNA の翻訳アレストに伴う mRNA 分解では poly(A) 鎖長の短縮が抑制されることを論じた。普遍的な mRNA 分解は、poly(A)鎖長の短縮をきっかけに起こると考えられている。AdoMet によって翻訳アレストが起こったとき、poly(A)鎖がどのように分解されるのかを明らかにするため、*CGS1* mRNA の poly(A)鎖長を測定した。その結果、定常状態では、*CGS1* mRNA の poly(A)鎖長は 60 塩基程度であったのに対し、AdoMet による mRNA 分解が起こる条件下では、poly(A)鎖の長さが約 150 塩基と約 20 塩基の 2 つの *CGS1* mRNA 分子種が蓄積した。これらは、前者が切断前、後者が切断後の *CGS1* mRNA と同定された。翻訳アレストに伴う *CGS1* mRNA の分解は、mRNA 切断をきっかけに起こり、このとき普遍的 mRNA 分解とは異なるメカニズムが機能していると考えた。

第 3 章では、AdoMet によるリボソームの停滞と *CGS1* mRNA 分解中間体の生成メカニズムを論じた。AdoMet によって翻訳アレストを起こしたリボソームは 94 番目のセリン

までを翻訳し、部分翻訳産物として tRNA と結合した状態のペプチジル tRNA(Ser)が生じる。94 番目のコドンでリボソームが停滞すると、これに後続のリボソームが追突し、停滞させる。この後続のリボソームの停滞と *CGS1* mRNA 切断は相関していると考えられている。本研究では部分翻訳産物の tRNA の分子種を解析することで、追突したリボソームの停滞位置を特定した。94 番目のセリンまでの翻訳産物に加えて、85 番目のバリンと 76 番目のアラニンまでを翻訳したペプチジル tRNA が蓄積することから、追突したリボソームは 9 コドンの間隔で停滞すると考えられた。また、先頭、および追突したリボソームについてピュロマイシン反応性を解析し、これらが転座反応の段階で停滞すると考察した。

第 4 章では、リボソームが有する AdoMet 感知能の発現について、複数コドンの翻訳段階にわたる多面的な評価を行なった。AdoMet による翻訳アレストには *CGS1* mRNA にコードされる MTO1 領域と名付けたアミノ酸配列がシス配列として機能し、MTO1 領域から数コドン下流の Ser-94 コドンで翻訳アレストが起こる。したがって、MTO1 領域にコードされる MTO1 ペプチドは新生ペプチドとしてリボソームの出口トンネル内に存在する状態で翻訳アレストを引き起こす。翻訳アレストに伴い、MTO1 ペプチドを含む *CGS1* 新生ペプチドはリボソーム出口トンネル内で収縮構造をとり、また、翻訳アレストを起こしたリボソームはピュロマイシン反応性が低い。本研究では Ser-94 コドンよりも数コドン上流の範囲で翻訳段階におけるリボソームについて、新生ペプチドのコンフォメーション変化とピュロマイシン反応性の両面から解析を行なった。その結果、Ser-94 コドンを翻訳する前の段階でも AdoMet が新生ペプチドのコンフォメーションと翻訳反応に影響を与えることが明らかになった。以上の結果から、*CGS1* mRNA を翻訳中のリボソームは、MTO1 領域を翻訳した直後から AdoMet をモニターし始め、Ser-94 コドンで翻訳アレストを引き起こすと考察した。

第 5 章では、mRNA 分解と翻訳アレストに関する最新の報告と本研究で明らかにした一連の知見を総合的に考察し、*CGS1* mRNA における mRNA 分解と翻訳アレストの特異性と普遍性を論じた。