



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Translational regulation mediated by upstream ORF in Arabidopsis clock gene and diel genes [an abstract of entire text]
Author(s)	青山, 悠
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：理学部図書室】 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16282号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95502
Type	doctoral thesis
File Information	Haruka_Aoyama_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 青山 悠

学 位 論 文 題 名

Translational regulation mediated by upstream ORF in Arabidopsis clock gene and diel genes
(シロイヌナズナの時計遺伝子および日周遺伝子における uORF を介した翻訳制御に関する研究)

第1章 はじめに

地球の自転に起因する日周的な温度や昼夜サイクルは生物に大きな影響を及ぼす。その場から動くことのできない植物は、日周的に発現する遺伝子（日周遺伝子）の発現制御を通じてそのような環境変化に適切に応答し、生育や発達を最大化させている。日周遺伝子発現は、生長、光合成、花成、ストレス応答などの重要な生物学のプロセスに影響を及ぼし、概日時計と環境変化への応答により制御されている。概日時計の中心振動体は、朝から夜にかけてそれぞれの時間帯に発現ピークを持つ時計遺伝子が順番に発現し、転写-翻訳フィードバックループを構成することにより概日振動を実現している。これまで、日周遺伝子発現については主にメッセンジャーRNA (mRNA) 量に基づいて議論がなされてきた。しかし、いくつかの研究で mRNA 量と最終的なタンパク質量の相関が低いことが分かり、転写後制御の重要性が示唆されたにもかかわらず、技術的な制約もあり見落とされてきた。転写後制御はスプライシング制御や翻訳制御を含み、最終産物であるタンパク質に近いプロセスであるため、新生転写産物を合成するよりも素早く環境変化に応答できることから、昼夜の環境変化に対して重要な役割を果たすと考えられる。

第2章 日周遺伝子発現における翻訳制御の影響

日周遺伝子発現に対する翻訳制御の影響を明らかにするために、12 時間明暗サイクル下で生育したシロイヌナズナの時系列サンプルを用いて、mRNA 量を網羅的に解析する RNA-seq と翻訳量を網羅的に解析する Ribo-seq を行った。まず、一本の mRNA がどれくらい翻訳されるかという指標である翻訳効率を調べると、解析対象遺伝子のうち約半数が翻訳効率の変動を示したことから、遺伝子発現に翻訳制御が広く関わっていることが示唆された。次に、mRNA 量と翻訳量がそれぞれ日周変動を示すかという指標を組み合わせると、翻訳量のみが日周変動を示す遺伝子が約 1,000 個、mRNA 量と翻訳量の両方が日周変動を示し、かつピークがずれている遺伝子が約 2,500 個見つかり、日周遺伝子のうち約 70%に翻訳制御が影響している可能性が示された。興味深いことに、翻訳量のみが日周変動を示す遺伝子群では、半数以上の遺伝子が夜間に翻訳のピークを迎えることが分かった。

次に、日周的な翻訳制御のメカニズム解明に迫るため、上流オープンリーディングフレーム (uORF) に着目して解析を行った。uORF はタンパク質コード配列 (mORF) より上流の非翻訳領域 (5' -UTR) 上に存在し、下流の mORF の翻訳を抑制することが知られている。また、uORF は真核生物に広く保存されており、シロイヌナズナでも 37%の遺伝子が少なくとも一つの uORF を持つことが分かっている。uORF の有無と日周遺伝子発現の関係を調べると、翻訳量のみが日周変動を示す遺伝子群と、mRNA 量と翻訳量の両方が日周変動を示し、かつピークがずれている遺伝子群で、uORF を持つ遺伝子が有意に多いということが分かり、日周変動を示す遺伝子の翻訳制御に uORF が関与する可能性が示された。さらに、uORF を介した制御により発現が日周変動する遺伝子の候補を探索するため、uORF による制御がない遺伝子では uORF と mORF の翻訳効率の時間的なパターンが一致しているという仮説のもと、それぞれの翻訳効率が異なるパターンを示す遺伝子を 255 個抽出した。興味深いことに、この遺伝子群では uORF の翻訳効率が朝～昼の時間帯にピークを示す一方、mORF の翻訳効率は夜間にピークを示すことが分かった。この遺伝子群の中には翻訳量の

みが日周変動を示す遺伝子と RNA 量と翻訳量の両方が日周変動を示す遺伝子のどちらもが存在した。これらの結果は遺伝子発現の日周変動における翻訳制御に uORF が大きな影響を及ぼすことと、uORF による翻訳制御様式の多様性を強く示唆する。また、これらの遺伝子の中にはアミノ酸や炭素、ステロイド代謝に関連する遺伝子が多く含まれていることも明らかとなり、特定の代謝経路で uORF を介した翻訳制御が行われている可能性も示唆された。

第3章 シロイヌナズナの時計遺伝子 *LHY* における上流 ORF が介する翻訳制御

uORF により遺伝子発現が日周変動する可能性がある 255 個の遺伝子の中には、時計遺伝子の *LATE ELONGATED HYPOCOTYL* (*LHY*) が含まれていた。*LHY* はシロイヌナズナにおける概日時計の中心振動体のコア遺伝子であり、夜明けの時間帯に mRNA の発現ピークを持つ。*LHY* のノックアウト変異体は概日周期の短縮を示し、過剰発現変異体では恒明条件下で概日リズムの消失が見られる。また、*LHY* の翻訳段階における制御は光に応答した翻訳促進が知られている。第2章で得られたデータでは、*LHY* の uORF の翻訳効率は夜間に低く朝方に高くなる一方、mORF の翻訳効率はその逆の時系列パターンを示すことから、光あるいは時間依存的に uORF を介した翻訳制御が行われていることが考えられた。そこで、*LHY* uORF に変異を加えることにより、機能解析と概日時計への影響を調べた。

第4章 おわりに

mRNA の翻訳は細胞内で最もエネルギーを消費するプロセスであることから、厳密に制御される必要がある。この学位論文では、日周遺伝子発現における翻訳制御の重要性と、そのメカニズムとなりうる uORF を介した翻訳制御の時計遺伝子における役割を明らかにした。