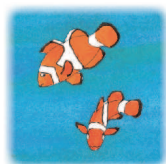


植物の環境ストレス応答と翻訳レベルの 遺伝子発現制御



研究ノート

松浦 秀幸*, 加藤 晃**, 平田 収正***

Plant response to abiotic stress and translational regulation

Key Words : abiotic stress, translation, 5'-UTR, polysome

はじめに

移動する手段を持たない植物は、めまぐるしく変化する外環境の下での生存の維持を可能とする、独自の環境応答・適応機構を長い進化の過程で獲得してきたと考えられる。遺伝子発現の制御は、そうした環境応答・適応機構の根幹をなす制御プロセスの一つである。遺伝子発現は、転写、転写後プロセッシング、mRNAの核外輸送、mRNAの分解、翻訳、翻訳後修飾などの様々な段階で制御されている。本

稿では、高温や塩、乾燥といった環境ストレスに対する植物細胞の応答としての翻訳制御機構に関して、筆者らの最近の研究を中心に紹介する。

環境ストレスに応答した翻訳制御機構における5'非翻訳領域(5'-UTR)の重要性

高温や塩、乾燥といった環境ストレスを受けた植物細胞では、大部分のmRNA種からの翻訳が抑制される一方、そうした翻訳抑制を回避し翻訳が維持、つまり選択的に翻訳される一部mRNAも存在することが知られている¹⁾。ストレス環境下において選択的に翻訳されるmRNA種の代表的な例としては、heat shock protein (hsp) や alcohol dehydrogenase (adh) 遺伝子などが挙げられる。そうしたいくつかの個別遺伝子を対象とした研究から、選択的翻訳が、mRNAの5'非翻訳領域(5'-UTR)を介した機構により制御されていることが明らかとなっている。

植物におけるmRNAの翻訳は、動物や酵母などのその他真核生物と同様、mRNAの5'端に存在するCAP構造に翻訳装置であるリボソーム小サブユニットが結合、5'-UTR上をスキヤニングすることにより開始される(スキヤニングモデル)²⁾。高温や低酸素といったストレスは、このCAP構造に依存する翻訳開始機構を阻害すると考えられている。一方、hspやadh mRNAは、5'-UTR内部へのリボソーム小サブユニットの結合を仲介するinternal ribosome entry site (IRES) と呼ばれる特定の配列を持つために、CAP構造に依存する翻訳開始機構が阻害された条件においても選択的に翻訳されるというモデルが提唱されている^{3,4)}。しかし、高温ストレス下でのシロイヌナズナhsp mRNAの選択的翻訳制御へのIRESの関与を否定する報告もなされており⁵⁾、個別遺伝子に着目した研究からは、5'-UTRを介した選択的翻訳制御機構に関する統一的な見解



*Hideyuki MATSUURA

1976年4月生
奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 (2008年)
現在、大阪大学大学院 薬学研究科生命情報環境科学専攻 助教 バイオサイエンス博士 植物分子生物学
TEL: 06-6879-8238
E-mail: hmhide@phs.osaka-u.ac.jp



**Ko KATO

1965年12月生
大阪大学大学院 工学研究科発酵工学専攻 (1994年)
現在、奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 助教 工学博士 植物分子生物学
TEL: 0743-72-5461
FAX: 0743-72-5469
E-mail: kou@bs.naist.jp



***Kazumasa HIRATA

大阪大学大学院薬学研究科 (1987年)
現在、大阪大学大学院 薬学研究科応用環境生物学分野 教授 薬学博士 環境生物学
TEL: 06-6879-8238
FAX: 06-6879-8239
E-mail: hirata@phs.osaka-u.ac.jp

は得られていない。

翻訳制御のゲノムワイド解析

mRNAの翻訳状態を解析する手法の一つにポリソーム解析がある。ポリソーム解析は、ショ糖密度勾配遠心によりリボソームの結合数に応じてmRNAを分画する手法であり、複数のリボソームと結合しポリソームを形成したmRNAほど活発に翻訳されていると考えられる。近年、ポリソーム分画と転写産物の網羅的解析手法を利用することにより（例えばポリソーム画分に含まれるmRNAをDNAマイクロアレイやRNA-seq解析を用いて網羅的に解析するなど）、mRNAの翻訳状態をゲノムワイドに解析する試みが、筆者らのグループを含めいくつかの研究グループによりなされている⁶⁻⁸⁾。乾燥や低酸素、高温、塩、重金属といった環境ストレスに対する応答のみならず、花器官形成や光形態形成に注目した翻訳制御のゲノムワイド解析がこれまでに行われ、そうした過程において各mRNA種の翻訳状態がダイナミックに変化していることが示されている。

5'-UTR内の制御エレメントの探索

ゲノムワイド解析から、環境ストレス等に応答して細胞内mRNAの翻訳状態がダイナミックに変化していることが明らかになりつつあるが、その制御機構に関する知見は極めて乏しいのが現状である。これは、多数のシスエレメントや転写因子などが同定されている転写レベルの制御とは対照的である。Bailey-Serresらのグループは、翻訳制御のゲノムワイド解析の結果を利用した*in silico*解析により、乾燥や低酸素ストレス下のシロイヌナズナにおける翻訳制御を規定するシスエレメントの同定を試み、5'-UTRの長さやGC含量等と制御の関連性を見出したものの、明確なコンセンサス配列を見出すには至らなかった⁹⁾。

筆者らは、奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科の金谷研究室との共同研究を通じて、独自のアルゴリズム¹⁰⁾を用いた*in silico*解析による、5'-UTR内に存在する新規翻訳制御因子の探索に取り組んだ。当該研究のスキームを図1に示す。まず高温ストレス処理した細胞から調製したポリソーム画分及び非ポリソーム画分をDNAマイクロアレイ解

析に供し、高温ストレスによるmRNAの翻訳状態変化のゲノムワイド解析を行った⁶⁾。続いて、ゲノムワイド解析の結果に基づいて選択した約40遺伝子の5'-UTRが、高温ストレス条件下におけるレポーターmRNAの翻訳に与える影響を、プロトプラストを用いたレポーターアッセイにより評価した。レポーターアッセイにより得られた5'-UTRを介した翻訳制御に関する指標値と5'-UTRの塩基配列情報を、新規アルゴリズムにより関連づけ、指標値に最も寄与する塩基領域の推定と指標値に最も寄与する最適配列の抽出を行った。本手法の特色は次の3点にある。

1) 配列データからn塩基配列頻度(n=3の場合、aaa,aac,...,ttt)を変数として抽出後、この塩基配列頻度から指標値を予測するPLS(Partial Least Squares)回帰モデルを構築した。

この予測モデルを、配列に存在し得る領域から網羅的に構築した。

2) 予測モデルの予測精度を示すQ²を指標として重要領域を探索した。

3) 重要領域において構築した予測モデルのPLS係数を用いて、周辺塩基の影響を加味したポジション毎の各塩基の寄与度を求め、最適配列を抽出した。

当該*in silico*解析及びその後の5'-UTRへの変異導入試験等による実験的検証から、筆者らは5'-UTRの5'末端近傍配列が、高温ストレスに応答した翻訳制御を規定する重要な因子であることを初めて見出した。

植物細胞における外来遺伝子発現

微生物や動物細胞による有用タンパク質生産システムの代替として、植物細胞の活用が大いに期待されている。その理由として、生産コストの低さ、容易なスケールアップ、ウィルス・病原菌等の混入リスクの低さなどが挙げられるが、一方で目的タンパク質の発現量の低さが商業化への大きな障害となっている。そのため、遺伝子発現制御機構に関する知見（例えば高転写活性プロモーターや翻訳エンハンサー）を活用して、導入遺伝子の発現を向上させる試みが盛んになされている。5'-UTRの5'末端近傍領域の配列が高温ストレス下の翻訳制御において重要であるという知見は、外来遺伝子発現系における

プロモーターと導入遺伝子の連結方法、つまり転写開始点や5'-UTRの末端配列もまた、植物細胞における外来遺伝子発現系において考慮すべき重要な要素であることを強く示唆するものである。

おわりに

現在人類が直面している食糧、エネルギー、環境問題などに対する世界的な問題意識の高まりを背景に、植物の環境ストレス応答機構の理解と得られた知見の環境ストレス耐性植物作出への応用を志向した研究が世界中で活発になされている。本稿では、環境ストレスに応答した植物の翻訳制御機構、特にmRNAの選択的制御に関わる因子に関して筆者ら

が最近得た知見を紹介した。5'-UTRの5'末端は、転写開始点によって規定されるものである。そういった意味で、高温ストレス下の翻訳制御における5'-UTRの5'末端近傍領域の重要性は、転写開始点と翻訳の協調的な制御の存在を示唆するものであり非常に興味深い。5'-UTRの5'末端近傍領域が、どのような機構で高温ストレス下における翻訳制御を規定しているかについては今後の研究の進展が待たれるが、本稿で紹介した知見は、翻訳制御を介した植物の環境ストレス応答機構解明に向けた端緒を開くものであり、新規改変戦略に基づくストレス耐性植物の作出へと繋がるのが期待される。

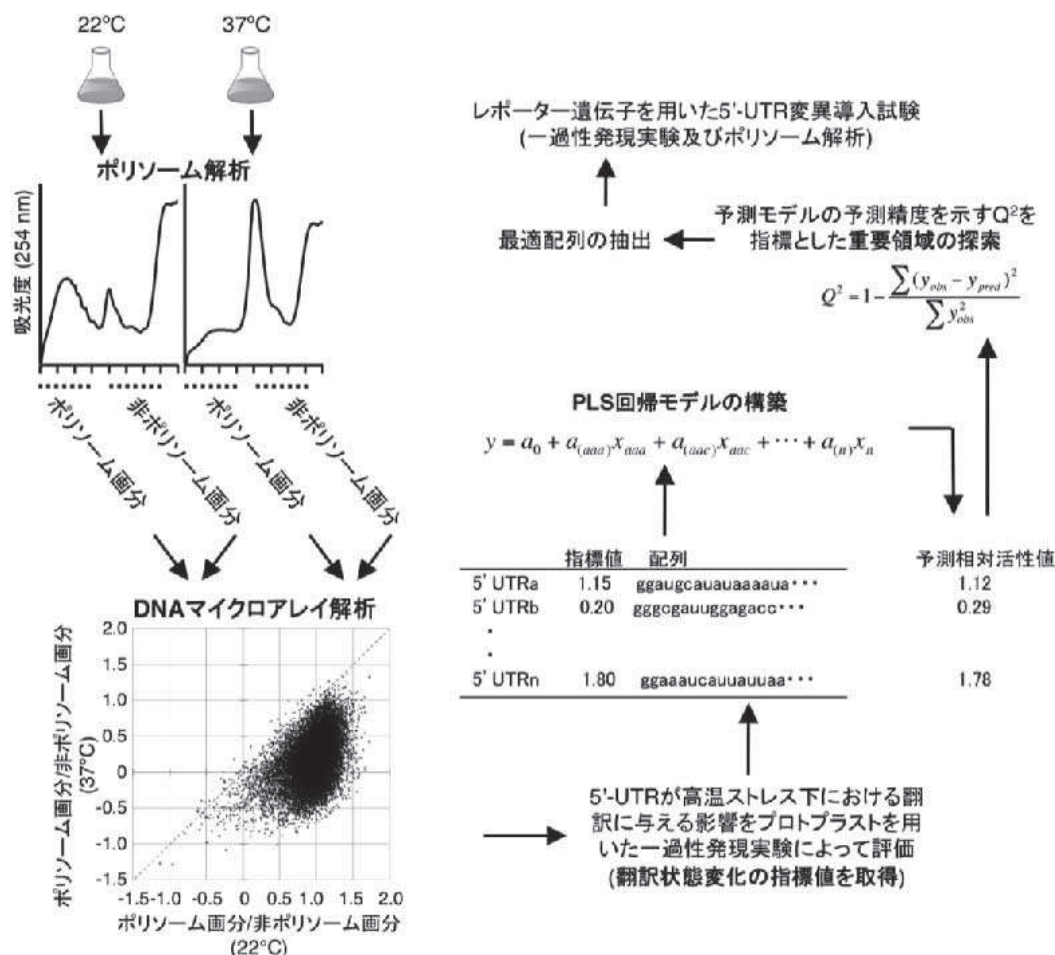


図1 高温ストレス下での翻訳制御を規定する5'-UTR内因子の探索スキーム
高温ストレス処理したシロイヌナズナ培養細胞を、ショ糖密度勾配遠心法を用いたポリソーム分画に供し、254 nmの吸光プロファイルを取得した。高温処理によりポリソーム分画が解離し、非ポリソーム分画が増加している。ポリソーム分画及び非ポリソーム分画をDNAマイクロアレイ解析に供し、各mRNAの翻訳状態の指標値をゲノムスケールで取得した。大部分のmRNAのポリソーム分画/非ポリソーム分画存在比が、高温ストレス処理により減少している。続いて、一過性発現実験を通じて、5'-UTRを介した翻訳状態変化の指標値と対応する5'-UTRの塩基配列情報を約40種類の遺伝子に関して取得し、当該データをPLS回帰モデル構築を用いた*in silico*解析に供した。

- 1) Bailey-Serres, J., 1999. Trends Plant Sci. 4, 142-148.
- 2) Kozak, M., 1999. Gene 234, 187-208.
- 3) Dinkova, T.D. et al., 2005. Plant J. 41, 722-731.
- 4) Mardanov, E.S. et al., 2008. Gene 420, 11-16.
- 5) Matsuura, H. et al., 2008. J. Biosci. Bioeng. 105, 39-47.
- 6) Matsuura, H. et al., 2010. Plant Cell Physiol. 51, 448-462.
- 7) Mustroph, A. et al., 2009. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 18843-18848.
- 8) Jiao, Y., and Meyerowitz, E.M. 2010. Mol. Syst. Biol. 6, 419.
- 9) Kawaguchi, R., and Bailey-Serres, J. 2005. Nucleic Acids Res. 33, 955-965.
- 10) 加藤晃 et al., PCT 出願, JP2010-64006.

