



## 最小オープンリーディングフレーム「AUG-stop」を介した リボソームを舞台とした新たな遺伝子発現制御機構の発見

### 研究成果のポイント

- ・ 翻訳開始コドンの直後に終止コドンが続く最も短いオープンリーディングフレーム<sup>(注1)</sup>である「AUG-Stop」で、リボソームがホウ素を感知して停止し、さらに mRNA 分解を引き起こすことを発見。
- ・ シロイヌナズナは、植物の必須栄養素の一つであるホウ素の細胞内の濃度に応じてホウ素輸送体の合成を調節して環境条件に適応するのに、この機構を用いていることを発見。
- ・ 今回発見した応答機構は動物でも機能する普遍的なもので、様々な栄養や細胞内環境に応じた多くの遺伝子発現制御に重要である可能性があり、生物機能を人為的に制御する新たな方策の開発につながる。

### 研究成果の概要

遺伝子の中でタンパク質のアミノ酸配列を規定する領域をオープンリーディングフレーム (ORF) と呼びますが、翻訳開始を示すコドン AUG と翻訳終止を示すコドン UAA のみからなる AUGUAA という配列は考える限り最も小さい ORF です。これまで、この小さな ORF が特別な機能を持つとは考えられていませんでした。シロイヌナズナのホウ素輸送体である NIP5;1 の発現は、この最も短い ORF でリボソームがホウ素濃度依存的に停止することを介した新たな仕組みで制御されていることが明らかになりました (図)。

本研究は、タンパク質合成装置が合成の過程で無機栄養を感知し、その挙動を変えることを通じた遺伝子発現制御機構を初めて示したものです。このような制御は真核生物に広く存在している可能性が考えられます。

### 論文発表の概要

研究論文名: The Minimum Open Reading Frame, AUG-Stop, Induces Boron-Dependent Ribosome Stalling and mRNA Degradation (AUG-Stop なる最小のオープンリーディングフレームがホウ素に応答したリボソームの停止と mRNA 分解を誘導する)

著者: 田中真幸, 反田直之, 藤原 徹 (東京大学大学院農学生命科学研究科), 山角祐介, 秋山 徹 (東京大学分子細胞生物学研究所), 山下由衣 (北海道大学大学院生命科学院), 三輪京子 (北海道大学大学院地球環境科学研究院), 室田勝功, 尾之内均 (北海道大学大学院農学研究院), 千葉由佳子 (北海道大学大学院理学研究院, 大学院生命科学研究科), 平井優美 (理化学研究所環境資源科学

研究センター), 内藤 哲 (北海道大学大学院農学研究院, 大学院生命科学院)

公表雑誌: The Plant Cell

公表日: 米国東部時間 2016年10月19日(水) (オンライン公開)

## 研究成果の概要

### (背景)

植物が生育するには土壌からの栄養吸収が不可欠です。ホウ素は植物に必須な無機栄養素であり、土壌のホウ素が少ないと植物は欠乏症を発症します。一方で高濃度のホウ素は毒性があるため、ホウ素が過剰になっても生育障害を引き起こします。世界にはホウ素が少なすぎる土壌や多すぎる土壌が分布しており、このような土壌でも植物体内のホウ素濃度が適正に保たれることが農業生産や植物の生育に重要です。

植物体内の栄養濃度を適正に保つには植物体内への栄養の輸送を制御することが重要です。栄養の輸送は輸送体<sup>(注2)</sup>が担っています。NIP5;1<sup>(注3)</sup>と呼ばれるタンパク質はシロイヌナズナのホウ酸輸送体であり、土壌からホウ酸を吸収するのに重要なタンパク質です。この遺伝子を欠損したシロイヌナズナはホウ素欠乏条件では生育ができなくなります。NIP5;1の発現はホウ素条件によって制御されています。土壌のホウ素濃度が低いと *NIP5;1* mRNA は多く蓄積し、多くの NIP5;1 タンパク質が合成され、ホウ素の効率的な吸収を可能にします。一方、ホウ素濃度が高いと NIP5;1 の mRNA の蓄積は大幅に減少し、NIP5;1 タンパク質が合成されなくなります。ホウ素が十分にある条件でホウ素を効率よく吸収すると、ホウ素過剰となってホウ素毒性が顕在化する可能性があり、そうならないように制御していると考えられます。今回の研究では、この制御にタンパク質合成装置であるリボソームが関与していることを明らかにしました。

### (研究方法・成果)

東京大学大学院農学生命科学研究科の藤原 徹教授、北海道大学大学院農学研究院の内藤 哲教授らは、東京大学分子細胞生物学研究所、北海道大学大学院理学研究院、同地球環境科学研究院、同生命科学院、理化学研究所と共同で、植物の生育に必要な栄養の吸収に関わるタンパク質の一つである NIP5;1 の栄養条件に応じた発現制御が、これまでに知られていないリボソーム機能を介したタンパク質合成阻害と mRNA 分解によって起こることを明らかにしました。詳細には、細胞内のホウ素濃度が高いと、タンパク質合成装置であるリボソームが *NIP5;1* mRNA を鋳型にタンパク質合成(翻訳)する過程でホウ素濃度が高いことを感知して一部の機能停止を起こすこと、この機能停止には *NIP5;1* mRNA に存在する AUGUAA (AUG は開始コドン<sup>(注4)</sup>, UAA は終止コドン<sup>(注5)</sup>) という配列が必要であることを明らかにしました。このリボソームの機能停止に伴って、NIP5;1 タンパク質合成が抑制されると共に、*NIP5;1* mRNA の分解が起こり、NIP5;1 の合成を素早く抑制することができると考えられます。

本研究では、ホウ素条件に応じて NIP5;1 の mRNA の蓄積がどのように制御されているかを明らかにするために、配列を人為的に変化させた *NIP5;1* 遺伝子を植物細胞に導入し、導入した遺伝子のホウ素による発現制御を調べることによって、制御に重要な配列を調べました。その結果、AUGUAA という配列が不可欠であることが明らかになりました。開始コドンの AUG を他のコドンに変化させるとホウ素に応じた制御が起らなくなりました。UAA を終止コドン以外のコドンに変えても、また、開始コドンと終止コドンの間に他のコドンを追加しても制御が起らなくなりました。一方で、終止コドン (UAA) を他の終止コドン (UGA と UAG) に変えた場合はホウ素による制御が見られました。これらの

ことから、ホウ素による発現制御には開始コドンと終止コドンが連続している、つまり最小の ORF であることが必要なことがわかりました。

このような反応がどのように起こるかを知らため、試験管内翻訳反応系でホウ素の効果を調べました。試験管内翻訳反応系は、リボソームなどのタンパク質合成装置を含む細胞抽出液であり、反応液に mRNA を加えると、細胞内で起こるリボソームによるタンパク質合成反応を試験管内で再現できる実験系です。この実験系に、AUGUAA 配列を持つ mRNA を入れて翻訳させたところ、ホウ素を与えることで翻訳反応が阻害されることが明らかになりました。このような阻害は AUGUAA 配列を持たない mRNA では起こりませんでした。また、ホウ素以外の塩類を加えても反応は見られませんでした。これらの結果は AUGUAA 配列を介した制御がホウ素に特異的に起こることを示しています。

リボソームは mRNA の 5' 末端から AUG を探し、最初の AUG を見つけるとタンパク質合成を始めると考えられています。この制御にリボソームが関与している可能性を検討するために、トープリント試験<sup>(注6)</sup>を行いました。トープリント試験では、mRNA 上でどの位置にリボソームが存在するかを推定することができます。ホウ素の濃度を変えてトープリント試験を行ったところ、ホウ素濃度が高いと AUGUAA 配列でリボソームが停滞しやすくなることが明らかになりました。停滞しているリボソームは翻訳を行いません。タンパク質合成装置であるリボソームの挙動がホウ素により制御されており、このような制御が AUGUAA 配列上で起こることが明らかになりました。

AUGUAA を介したホウ素による制御は *NIP5;1* 遺伝子以外にもシロイヌナズナの根や茎の成長に関わる *SKU5* 遺伝子と *ABS2/NGAL1* 遺伝子、さらには *NIP5;1* と相同なイネの遺伝子でも起こることを示しました。さらに、動物細胞由来の試験管内翻訳反応系でも同様にホウ素に対する応答が見られました。また、ヒト由来の細胞でもホウ素応答が見られました。これらのことから AUGUAA 配列に依存したホウ素による発現制御機構は普遍的に存在することが明らかになりました。

#### (今後への期待)

最小の ORF である AUGUAA が特別な機能を持つとはこれまで考えられておらず、研究対象にされていませんでした。今回の発見で、リボソームを舞台とした遺伝子発現制御のレパートリーが広がるとともに、この制御の分子メカニズムの研究を通じて、リボソームが持つ未知の機能が明らかになる可能性があります。

また、栄養素がどのように感知されるかはほとんどわかっておらず、今回の成果は栄養の新たな感知機構を示すものであり、このような感知機構を制御することを通じて、貧栄養の土壌でも生育できる作物の作出につながると期待されます。

#### お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院農学研究院 教授 内藤 哲（ないとう さとし）  
TEL：011-706-2800 FAX：011-706-4932 E-mail：naito@abs.agr.hokudai.ac.jp  
ホームページ：http://www.agr.hokudai.ac.jp/arabi/

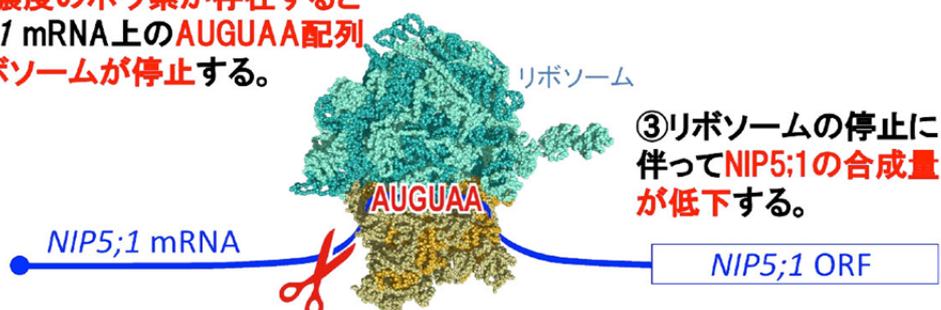
[用語解説]

1. **オープンリーディングフレーム** 遺伝子や mRNA 上に存在する、タンパク質のアミノ酸配列を規定する領域。ORF と略記される。遺伝子にはタンパク質のアミノ酸配列を規定する領域以外に、mRNA 合成を調節する領域などが存在しており、その中でタンパク質のアミノ酸配列を規定する領域のことを言う。
2. **輸送体** 細胞膜等に埋まったタンパク質で特定の基質を膜の片側から反対側へ輸送させる能力を持つタンパク質の総称。
3. **NIP5;1** 土壤中のホウ素を根に取り込む働きをもつ輸送体で、細胞膜上に存在している。日本語では「エヌ・アイ・ピー・5の1」もしくは「ニップ5の1」と呼ぶ。
4. **開始コドン** オープンリーディングフレームの最初のコドンであり、翻訳を開始する位置を示す。メチオニンをコードする AUG が使われている。
5. **終止コドン** オープンリーディングフレームの最後のコドンであり、翻訳を終了する位置を示す。UAA, UGA, UAG の3種類があり、アミノ酸をコードしていない。
6. **トープリント試験** 試験管内翻訳系で反応させた mRNA をそのまま鋳型にして DNA 合成反応を起こさせることによって mRNA に結合しているリボソームやタンパク質の位置を調べる実験手法。

[参考図]

①リボソームがNIP5;1 mRNAの5'末端からAUGコドンを探す。

②高濃度のホウ素が存在するとNIP5;1 mRNA上のAUGUAA配列でリボソームが停止する。



④リボソームの停止に伴って、mRNAが分解されNIP5;1の合成がさらに抑制される。

-無機元素の翻訳装置による新しい感知機構  
-植物だけでなく動物にも共通の現象

## リボソームを介したホウ素応答