

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 28 年度）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 基盤研究(C)（一般） 4. 補助事業期間 平成 27 年度～平成 29 年度

5. 課題番号

1	5	K	0	7	1	0	7
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 植物の環境ストレス種特異的な翻訳制御機構の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
8 0 2 8 3 9 3 5	カトウ コウ 加藤 晃	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

昨年度までに選抜した候補5' UTRの中で、熱ストレス下では翻訳が抑制され塩ストレス下では翻訳が維持されるAt1g09970やAt5g13180 mRNAの5' UTR(142および67塩基、転写開始点が条件間で一致)を35Sプロモーターの支配下でレポーターFLUC遺伝子と連結したバイナリーベクターを、それぞれシロイヌナズナ培養細胞T87に導入した形質転換培養細胞を作成し、ポリソーム/定量RT-PCR解析を行った。結果、それぞれの5' UTRを連結した FLUC mRNA は、内在性 At1g09970およびAt5g13180 mRNAと同様に、熱ストレス下と比較して、塩ストレス下で翻訳が維持される挙動を示した。これら5' UTRは、熱抑制/塩維持のストレス種特異的な翻訳状態に寄与し、熱抑制/塩維持のストレス種特異的な翻訳状態を規定する要因としての5' UTRの重要性が示唆された。

また、各条件で転写開始点に変化していた6種（At1g16030, At1g53540, At3g08970, At1g70300, At2g46240, At5g37340）の候補遺伝子の5' UTRについて、それぞれ変化前後の5' UTRを連結した、cap構造、ポリA配列を有する合成FLUC mRNAをin vitroで合成し、プロトプラストに導入した。その後、通常条件（22℃）および熱ストレス条件下（37℃）に20分間静置後、それぞれのFLUC活性値を測定した。結果として、FLUC活性値は、転写開始点変化前後の5' UTR間で異なり、ストレスに応答した転写開始点の変化は、mRNAの熱ストレス下での翻訳活性を変化させることが示された。

10. キーワード

- | | | | |
|------------|------------|------------|--------------|
| (1) 翻訳制御 | (2) 環境ストレス | (3) 植物培養細胞 | (4) ゲノムワイド解析 |
| (5) 5' UTR | (6) | (7) | (8) |

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

シロイヌナズナ培養細胞の通常条件、熱ストレス条件、塩ストレス条件のいずれにおいても転写開始点が変わっていなかった2遺伝子については、キメラ遺伝子を導入した安定形質転換体を用いた解析を、また、条件間で転写開始点が6変化していた遺伝子については、変化前後の5' UTRを連結した*in vitro*で合成したmRNAを用いた一過性発現実験により、それぞれの特性を評価し、当初の予定どおり研究が進展している。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

形質転換体を用いた解析より、ストレス種特異的な翻訳状態変化を規定する要因としての5' UTRの重要性が示された。用いた5' UTR内に、ストレス種特異的な翻訳状態変化を規定する制御配列が存在すると考えられる。また、熱抑制/塩維持という翻訳の挙動を示す候補 mRNAの5' UTRに限定すると、CU反復という共通性が認められた。例えば、At1g09970 5' UTR内(148塩基)には、5' 末端から数えて22~74塩基に13×CU反復が認められた。また、At5g13180 5' UTR内(67塩基)には、5' 末端から数えて9~67塩基の間に4×CU反復およびCU rich領域が認められた。このことから、5' UTR内に存在するCU反復領域やCU rich領域が、熱抑制/塩維持というストレスの種類に特異的な翻訳状態変化に関係している可能性が考えられた。もし、CU反復領域等が翻訳制御に関わる制御配列ならば、ゲノムワイドな解析(CU反復領域やCU rich領域を持つmRNAの翻訳挙動)においても、同様の傾向が認められると考えられた。そのため、次にCAGE解析によって転写開始点(5' UTR)を網羅的に同定し、得られたデータを用いて、5' UTR内にCU反復領域等を有するmRNAのストレスに応答した翻訳状態変化を網羅的に解析する。また、CU反復が熱抑制/塩維持のストレス種特異的な翻訳制御に寄与しているのか調べるために、変異を導入したキメラ5' UTRを連結したレポーター遺伝子を発現する形質転換体を用いた解析を行う。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

当初計画していた安定形質転換体を用いた解析の一部を次年度実施分とした。

(使用計画)

28年度実施予定分と29年度実施計画分を合わせて解析にかかる消耗品費として使用する。

(課題番号: 15K07107)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

13. 研究発表（平成28年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（0）件 / うち査読付論文 計（0）件 / うち国際共著 計（0）件 / うちオープンアクセス 計（0）件

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）						
オープンアクセス						

〔学会発表〕 計（4）件 / うち招待講演 計（2）件 / うち国際学会 計（1）件

発表者名		発表標題		
加藤晃		植物での有用遺伝子高発現系とその活用		
学会等名	発表年月日	発表場所		
2016年度日本生物工学会北日本支部弘前シンポジウム（招待講演）	2016年07月23日	弘前大学 青森県弘前市		

発表者名		発表標題		
今瀬諒司、山崎将太郎、出村拓、加藤晃		高翻訳に資する5' UTRを用いた導入遺伝子高発現系		
学会等名	発表年月日	発表場所		
第34回日本植物細胞分子生物学会	2016年09月01日 ~ 2016年09月03日	信州大学 長野県上田市		

発表者名	発表標題	
山崎将太郎、今瀬諒司、出村拓、加藤晃	翻訳効率を5' UTR配列から予測できる数式モデルの構築	
学会等名	発表年月日	発表場所
第34回日本植物細胞分子生物学会	2016年09月01日 ~ 2016年09月03日	信州大学 長野県上田市

発表者名	発表標題	
加藤晃	Transgene expression system optimizing translation process.	
学会等名	発表年月日	発表場所
PepTalk 2017 (招待講演) (国際学会)	2017年01月09日 ~ 2017年01月13日	Hilton San Diego Bayfront アメリカ、サンディエゴ市

〔図書〕 計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計（ 0 ）件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

（ 1 ）国際共同研究： -

17. 備考

--