

キャップ非依存的翻訳開始機構の解析。

○柳谷 朗子<sup>1</sup>, Nahum Sonenberg<sup>1</sup> (<sup>1</sup>マギル大学)

【目的】真核細胞の mRNA には、5'末端にキャップ構造が存在し、これが翻訳開始因子である eukaryotic polypeptide chain initiation factor 4F (eIF4F) と結合することが、キャップ依存的翻訳開始機構において重要な段階である。真核細胞の翻訳開始機構にはこの機構以外に、キャップ構造に依存しないキャップ非依存的翻訳開始機構が存在し、癌細胞や有糸分裂期やアポトーシスといったキャップ依存的翻訳開始機構が阻害されている環境下において機能している。本研究では、後者の機構の解析を目的とした。

【方法】eIF4F は、eIF4E、eIF4G および eIF4A という三つの翻訳開始因子により構成されており、このうち eIF4E がキャップ構造に結合する分子であり、キャップ依存的翻訳開始機構において主要な役割を担っている。本研究では、eIF4E に対する small interfering RNA (siRNA) を発現する stable 細胞を樹立することにより、その発現を抑制して eIF4E によるキャップ依存的翻訳開始機構を阻害した。この条件下において、細胞の蛋白合成を <sup>35</sup>S-methionine を用いて測定し、またキャップ構造に結合する分子、および eIF3 を介して mRNA と ribosome の橋渡しをする eIF4G に結合する分子の検討を行った。また、キャップ構造依存的翻訳活性、internal ribosomal entry site (IRES) による翻訳活性などを、Dual-Luciferase Reporter Assay により検討した。

【結果および考察】siRNA によって eIF4E の発現レベルを 2% にまで抑制したにもかかわらず、細胞の蛋白合成は 30-40% にまでにしか減少しなかった。このことは、キャップ非依存的翻訳開始機構がキャップ依存的機構と同じように細胞にとって必須な機構であることを示唆するものである。