

28P-am12S

ポリアミンによる翻訳伸長因子 eEF1A の蛋白質合成促進機構の解明

○坂本 明彦¹, 照井 祐介¹, 吉田 健人¹, 笠原 拓馬¹, 富取 秀行²,
五十嵐 一衛^{3,4}, 柏木 敬子¹ (¹千葉科学大薬, ²神奈川工大応用バイオ科学, ³千葉
大院薬, ⁴アミンファーマ研)

【目的】ポリアミンは、主に RNA と相互作用し細胞増殖因子として働く。ポリアミンにより翻訳レベルで合成促進をうける蛋白質をコードする遺伝子群をポリアミンモジュロンと命名し、これまでに大腸菌で 17 種、真核細胞で 4 種を同定した。本研究ではポリアミンモジュロンとして同定した翻訳伸長因子 eEF1A の蛋白質合成促進機構の解明を行った。

【方法】マウス乳がん細胞 FM3A をオルニチン脱炭酸酵素阻害剤である α -difluoromethylornithine 有無で培養し、翻訳因子 19 種の発現量を比較した。eEF1A の 5'-非翻訳領域 (5'-UTR) を EGFP に融合させ、マウス繊維芽細胞 NIH3T3 に遺伝子導入し、EGFP の発現量を比較することで eEF1A の合成促進機構を検討した。

【結果及び考察】翻訳因子 19 種のうち、ポリアミンにより翻訳レベルで合成促進された eEF1A をポリアミンモジュロンとして同定した。次に eEF1A mRNA の 5'-UTR の二次構造を Zuker の方法で構築したところ、開始コドンから上流 26~45 塩基の hairpin 構造部分に 18S rRNA に対する相補配列 (eukaryotic Shine-Dalgarno sequence: eSD) が見出された。この eSD 配列を消失した変異体を作製したところ、ポリアミンによる促進効果が消失した。さらに eSD を他の 18 種の翻訳因子 mRNA 5'-UTR で探索したところ、上流 17~32 塩基に存在することを見出した。そこで、eEF1A の eSD を上流 17~32 塩基に移動させた変異体を作製したところ、ポリアミンによる促進効果が消失し、ポリアミンの有無に関係なく蛋白質発現量が増加した。従って、真核細胞の mRNA にも SD 配列が存在し、SD 配列が開始コドン AUG より離れているとポリアミンによる促進が認められることが明らかとなった。