

27J-am06

ポリアミンにより翻訳促進を受ける蛋白質の同定

○吉野 哲彦¹, 吉澤 祐希¹, 戸井田 敏彦¹, 五十嵐 一衛^{1,2}, 西村 和洋¹ (¹千葉大院薬, ²アミンファーマ研)

【目的】細胞増殖必須因子であるポリアミンは細胞内で主に RNA と相互作用して存在し、蛋白質合成の調節を介して細胞増殖の促進に寄与すると考えられている。ポリアミンにより翻訳促進を受ける蛋白質は原核生物において多数同定され、細胞増殖や細胞生存率に寄与することが明らかとなっている一方で、真核生物では数種類しか同定されていない。そこで本研究は、ポリアミンにより翻訳促進を受ける蛋白質を新規に同定することを目的として実験を行った。

【方法・結果】マウス乳癌由来 FM3A 細胞をポリアミン生合成律速酵素阻害剤 DFMO の存在下 / 非存在下で 3 日間培養した。それらの細胞からライセートを調製し、ショ糖密度勾配遠心により翻訳状況 (1 本の mRNA に結合するリボソーム数) に応じて 3 グループに分画し、RNA の抽出を行った。抽出した各グループの mRNA、並びに未分画の mRNA を次世代シーケンスにより解析した。本研究ではポリアミンにより翻訳促進を受ける蛋白質の同定を目的とするため、DFMO の有無により mRNA 量が大きく変化しない 2146 種の遺伝子について解析を進めた。翻訳状況により分画した 3 グループの mRNA 量をそれぞれ解析した結果、複数のリボソームを結合したポリソームの形成が低下する遺伝子を複数見出した。ポリソームの形成は蛋白質合成活性と高い相関性を持つと考えられる。そこで、ポリソーム形成の低下が特に顕著な 10 種の遺伝子についてウェスタンブロッティングにより蛋白質量の変化を調べた。その結果、DFMO 存在下の培養により PCNP、PMF-1、RANBP1 の 3 種の蛋白質量が減少した。以上の結果より上記の 3 種はポリアミンにより翻訳促進を受ける蛋白質であることが強く示唆された。