

様 式 C - 7 - 1

## 平成 2 8 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

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 特別研究員奨励費      4. 研究期間 平成 2 8 年度～平成 2 9 年度
5. 課題番号 

1	6	J	0	9	8	8	4
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 哺乳動物細胞における XBP1u の機能性翻訳停止機構の解明

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	オオフルドノ ミク 大古殿 美加	バイオサイエンス研究科	特別研究員(DC2)

## 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

ポリペプチド鎖伸長反応はタンパク質合成装置であるリボソームが mRNA 上を移動しながら遺伝情報（コドン）に対応するアミノ酸を選び、一つずつ付加していく反応である。一般的に、この反応はリボソームが mRNA 上をスムーズに進行し行われると考えられている。

しかし、当研究室では例外的事象として、哺乳動物細胞の転写因子 XBP1u の C 末端でリボソームが一時的に停止する「翻訳停止」という現象を見出した。また、翻訳停止が起こるために必須である最少翻訳停止配列（236番目から261番目のアミノ酸配列）は翻訳停止時にリボソームトンネル内に位置することから、XBP1u による翻訳停止は合成途中のペプチド鎖（新生鎖）とリボソームトンネルとの相互作用により起こることが示唆されるが、詳細な機構については不明である。

そこで当研究では、XBP1u 新生鎖とリボソームトンネルとの相互作用に注目し、XBP1u の翻訳停止機構の解明を目的としている。今年度は、翻訳停止時に XBP1u 新生鎖と近接するリボソームタンパク質の同定、および同定されたリボソームタンパク質が XBP1u の翻訳停止に与える影響についての検証を中心に行った。その結果、翻訳停止時、XBP1u 新生鎖は複数のリボソームタンパク質（RPL3、RPL4、及び RPL7）と近接していることが分かった。また、これらのリボソームタンパク質をノックダウンした HEK293T 細胞においては XBP1u の翻訳停止の強度が弱化的ことが分かった。

これらの結果より、XBP1u の翻訳停止が起こるためには XBP1u 新生鎖と複数のリボソームタンパク質との相互作用が必要であることが示唆された。

## 10. キーワード

(1) 機能性翻訳停止	(2) XBP1u	(3) リボソーム	(4) 新生鎖
(5)	(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)

当研究では、XBP1u の翻訳停止機構の解明を目的としている。先行研究において、XBP1u 新生鎖とリボソームトンネルとの相互作用が翻訳停止を引き起こしている可能性が示唆されたため、今年度は XBP1u 新生鎖と近接するリボソームタンパク質の同定と同定されたリボソームタンパク質が XBP1u の翻訳停止に与える影響を検証した。その結果、XBP1u 新生鎖には複数のリボソームタンパク質が近接しており、それらのリボソームタンパク質をノックダウンした哺乳動物細胞においては XBP1u の翻訳停止が弱くなることが示唆された。この結果は当初の予想通りであり、現時点では、当研究の目的を達成するために必要なデータを得ることができたと考えている。そのため、研究はおおむね順調に進展しているといえる。

## 12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

現在までに、RPL3, RPL4, 及び RPL7をノックダウンした哺乳動物細胞においては、XBP1u の翻訳停止が弱化することが示唆されている。今後はノックダウンしたリボソームに関して、レスキュー実験を行うことにより、本当に RPL3, RPL4, 及び RPL7といったリボソームタンパク質が XBP1u の翻訳停止に関与しているのかを検証したいと考えている。

また、RPL4に関しては新生鎖と相互作用するアミノ酸 (71番目のアルギニン) が明らかになっているため、このアミノ酸を他のアミノ酸に置換した場合に、XBP1u の翻訳停止に影響を与えるか否かを確認したいと考えている。

リボソームトンネルはリボソームタンパク質だけではなくリボソーム RNA によっても構成されている。また、大腸菌を用いた研究においては、新生鎖がリボソームタンパク質、及びリボソーム RNA の両方と相互作用することにより翻訳停止を引き起こすことが報告されているため、XBP1u の場合にもリボソームタンパク質とリボソーム RNA の両方と相互作用している可能性が示唆される。そこで、光架橋法を用いて XBP1u 新生鎖と相互作用するリボソーム RNA の配列の同定も行いたいと考えている。

## 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 / うち国際共著論文 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（2）件 / うち招待講演 計（0）件 / うち国際学会 計（1）件

発表者名		発表標題	
大古殿美加		XBP1u タンパク質の翻訳停止機構の解明	
学会等名	発表年月日	発表場所	
科研費新学術領域「新生鎖の生物学」若手ワークショップ	2016年05月23日～ 2016年05月25日	兵庫県淡路市兵庫県立淡路夢舞台国際会議場	

発表者名		発表標題	
大古殿美加		Molecular mechanism of XBP1u translational pausing	
学会等名	発表年月日	発表場所	
科研費新学術領域「新生鎖の生物学」国際会議（国際学会）	2016年09月01日～ 2016年09月03日	山梨県南都留郡富士河口湖町富士レークホテル	

〔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

