

細胞質局在化RNAの局在化機構の解析

Analysis of an RNA localization mechanism in the cytoplasm

竹内 知子¹

¹大妻女子大学短期大学部

Tomoko Takeuchi¹

¹Junior College division, Otsuma Women's University

12 Sanban-cho, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan 102-8357

キーワード：酵母，局在化RNA，細胞質

Key words : Yeast, Localized RNA, Cytoplasm

抄録

RNAの細胞内局在化は、細胞の分化や極性形成を生み出す重要な現象である。本研究では、出芽酵母の細胞質に塊状に局在するmRNA（クローンNo. 302S）の局在化機構を解明するため、302SのmRNAの局在化に異常を示す遺伝子破壊株をスクリーニングする系を構築した。

1. 研究目的

遺伝情報は、遺伝子の本体であるDNAからRNAに写し取られて発現する。したがって、RNAの細胞内局在化は、遺伝情報を空間的および時間的に制御するための重要な現象である。哺乳動物から酵母にいたるまで、多数の生物種において局在化mRNAが存在し、生命現象にとって重要な役割を担っている。我々は、酵母を用いて局在化RNAの網羅的探索に着手し、新規の局在化RNAを多数発見した。これらの局在化RNAの局在化機構や局在化の生物学的意義を解析することで、局在化RNAの全貌解明に迫りたいと考えている。

本研究では、これらの局在化RNAのうち、302Sクローンについて、局在化機構の解析を試みた。

2. 研究内容及び成果

我々が発見した、細胞質に塊状に局在するmRNA（クローン名：302S）は、シャペロンをコードする。しかし、302SのmRNAがどのような機構で塊状に局在するかについては明らかになっていない。本研究では、302SのmRNAの局在化に関わる因子を探索することで、局在化機構を解明しようと試みた。

302SのmRNAの局在を可視化するために、細胞内でU1Aタグ付きの302SのmRNAを強制発現させると同時に、U1Aタグに結合するU1A蛋白質と緑色蛍光蛋白質（GFP）との融合蛋白質を強制発現

させた。前者については302Sプラスミドを、後者についてはpU1A-GFPプラスミドを細胞内に導入することで、発現を誘導した。この可視化システムにより、野生型株では302SのmRNAの塊状の局在が観察できた。様々な遺伝子破壊株で302SのmRNAを可視化して観察し、302SのmRNAが局在化できない遺伝子破壊株を発見できれば、その遺伝子破壊株で破壊されている遺伝子が302SのmRNAの局在化に関与していることがわかる。

そこで、本研究では、出芽酵母の5,000個弱の非必須遺伝子を破壊した遺伝子破壊株バンクを使って、302SのmRNAの局在を観察した。各遺伝子破壊株に、まず302Sプラスミドを導入し、次にpU1A-GFPプラスミドを導入するという2段階の形質転換によって、2つのプラスミドを導入した。多種類の遺伝子破壊株に対し、効率良く形質転換を行なうために、1度に最大96種類の遺伝子破壊株に対して形質転換を行なった。2段階の形質転換の結果得られた形質転換体を培養し、蛍光顕微鏡下で302SのmRNAの局在を観察した。本研究では、265種類の遺伝子破壊株で302SのmRNAの局在を観察したが、これらの中には局在化に異常を示すものはなかった。

3. まとめと今後の課題

本研究では、302SのmRNAの局在化に異常を示すものは発見できなかったが、2段階形質転換によ

るスクリーニング系の構築には成功した。

本研究では、遺伝子破壊株バンク全体のうち約5パーセントの遺伝子破壊株について調べた。302SのmRNAの局在化に異常を示す遺伝子破壊株はまだ発見できていないため、302SのmRNAの局在化機構を解明するためには、更なるスクリーニングが必要である。

4. 付記

本研究は、大妻女子大学戦略的個人研究費（課題番号 S2825）の助成を受けたものである。

Abstract

RNA localization in a cell is an important event to generate cellular differentiation and polarization. To analyze the localization mechanism of mRNA of clone No. 302S, forming a granule in the cytoplasm of *Saccharomyces cerevisiae*, a screening method to search for a gene-disrupted cell showing a defect in the localization of 302S mRNA was constructed in this study.

(受付日：2017年11月10日，受理日：2017年11月24日)

竹内 知子（たけうち ともこ）

現職：大妻女子大学短期大学部准教授

東京大学大学院理学系研究科博士課程修了。

専門は遺伝学。酵母を用いて局在化RNAの研究を行なっている。