

## 出芽酵母*EGD1* mRNAの細胞内局在の解析

### —令和4年度大妻女子大学戦略的個人研究費（N2207）結果報告—

Analysis of cellular localization of *EGD1* mRNA in budding yeast

—Report on results of the FY2022 Otsuma Grant-in Aid for Individual Exploratory Research (N2207)—

竹内 知子

大妻女子大学短期大学部, 大妻女子大学大学院人間文化研究所

Tomoko Takeuchi

Junior College division, Otsuma Women's University

Graduate School of Studies in Human Culture, Otsuma Women's University

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

キーワード：酵母, 局在化RNA, *EGD1*

Key words : Yeast, Localized RNA, *EGD1*

#### 抄録

*EGD1* mRNAがコードするEgd1蛋白質は、出芽酵母のnascent associated complex (NAC) を構成する。*EGD1* mRNAは、過剰発現させると細胞質に独特な塊状の局在を示す。しかし、*EGD1* mRNAの局在化のメカニズムは不明である。本研究では、*EGD1* mRNAの局在化に関わる因子のスクリーニングを行い、局在化に関わる因子の候補を得た。また、内在性の*EGD1* mRNAの局在解析について、1分子*in situ* hybridization法による解析を試みた。

#### 1. 研究目的

細胞内で局在化するmRNAは多数報告されており、mRNAの局在化によって、蛋白質の翻訳が時空間的に制御される。

当研究室では、これまで、RNAを強制発現させて可視化することで、局在化RNAのスクリーニングを行ってきた。出芽酵母の局在化RNAのスクリーニングで得た*EGD1* mRNAは、細胞質に独特な塊状の局在を示し、出芽酵母のNACのサブユニットをコードする<sup>[1]</sup>。NACはリボソームで合成される新生ポリペプチドに対して、シャペロンとしてはたらくと考えられている。

本研究では、*EGD1* mRNAの局在化のメカニズムを調べるために、*EGD1* mRNAの局在化に関わる因子のスクリーニングを行った。また、内在性の*EGD1* mRNAの局在について、1分子*in situ* hybridization法による解析を試行した。

#### 2. 研究内容及び成果

2.1. *EGD1* mRNAの局在化に関わる因子のスクリーニング

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用い、*EGD1* mRNAの局在化に関わる因子のスクリーニングを行った。野生型株に、U1Aタグ付きの*EGD1* mRNAを強制発現させるプラスミドと、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るプラスミドを導入し、同時に発現誘導すると、GFPにより*EGD1* mRNAが可視化され、細胞内に塊状の局在が検出できた。*EGD1* mRNAの局在化に異常を示す遺伝子破壊株を探索するために、遺伝子破壊株バンクの各遺伝子破壊株に、U1Aタグ付きの*EGD1* mRNAを強制発現させるプラスミドと、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るプラスミドを導入した<sup>[2]</sup>。発現誘導後、蛍光顕微鏡下で*EGD1* mRNAの局在を観察し、野生型株と異なる局在を示す株を探索した。本研究

を含め、現在までに 1,385 株の遺伝子破壊株について一次スクリーニングとしての観察を終え、*EGDI* mRNA の局在が野生型株と異なる遺伝子破壊株の候補を 2 株得た。

#### 2.2. 1 分子 *in situ* hybridization 法による解析

*EGDI* mRNA の局在について、これまでは過剰発現させた状態で観察していたが、1 分子 *in situ* hybridization 法による内在性の *EGDI* mRNA の局在解析を行うため、準備を進めた。*EGDI* mRNA の塩基配列に相補的な 19 塩基長の標識プローブを 25 種類設計し、1 分子 *in situ* hybridization による検出を試みた。

### 3. まとめと今後の課題

*EGDI* mRNA の局在に影響を及ぼす遺伝子破壊株の候補について、さらなる解析を進め、*EGDI*

mRNA の局在化のメカニズムを調べたい。また、1 分子 *in situ* hybridization 法による局在解析については、実験条件を検討し、複数のコントロール実験を行うことで、内在性の *EGDI* mRNA の局在について詳細に解析したい。

### 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 N2207）の助成を受けたものである。

### 引用文献

[1]Hayashi, Sachiko et al. *EGD1* (beta-NAC) mRNA is localized in a novel cytoplasmic structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes to Cells*. 2011, 16, p.316-329.

[2]竹内知子. 細胞内局在化 RNA の局在化機構の解析. *人間生活文化研究*. 2017, 27, p.674-675.

(受付日：2024 年 4 月 30 日，受理日：2024 年 7 月 29 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教授

大妻女子大学大学院人間文化研究科教授

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 の研究を行っている。