

ESP1/eRF1 involves in the translation termination of specific cysteine-poor prolamines in rice endosperm

アマル, アブドエルアジモ, アボエルヤジド, エルアクダル

<https://hdl.handle.net/2324/2236308>

出版情報：九州大学, 2018, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	アマル アブドエルアジモ アボエルヤジド エルアクダル
論文名	ESP1/eRF1 involves in the translation termination of specific cysteine-poor prolamines in rice endosperm (ESP1/eRF1 はイネ胚乳における特定プロラミン分子の翻訳終結に関与する)
論文調査委員	主査 九州大学 教授 熊丸敏博 副査 九州大学 教授 石野良純 副査 九州大学 准教授 久保貴彦

論文審査の結果の要旨

植物は発芽の際の窒素源として種子に貯蔵タンパク質を貯えている。種子貯蔵タンパク質は溶媒溶解性に基づき分類されており、その内アルコールに可溶性であるものをプロラミンと称する。プロラミンはさらに、システイン残基を含む分子種(CysR)と含まない分子種(CysP)とに分類される。プロラミン分子をコードする遺伝子の発現やプロラミン合成、蓄積に関与する因子が多く植物で報告されている。イネにおいて、CysP プロラミン量を減少させる突然変異 *endosperm storage protein 1 (esp1)* の原因遺伝子は eukaryotic peptide chain release factor 1 (eRF1) ホモログをコードしていることから、同ホモログを ESP1/eRF1 と称している。eRF1 は翻訳過程において mRNA の終止コドンを認識し、合成されたポリペプチド鎖をリボソームから遊離させる作用を有する。*esp1* 突然変異系統 CM21 と EM711 は、同遺伝子内にアミノ酸の置換を伴う塩基置換を有している。*esp1* 突然変異において減少する CysP プロラミン分子をコードする遺伝子の終止コドンは UAA のみであったことから、ESP1/eRF1 は UAA 終止コドンの特異的に認識するという仮説が示されている。本研究は翻訳終結における ESP1/eRF1 の特異的な終止コドン認識に関する機能を明らかにすることを目的として行ったものである。

まず、ESP1/eRF1 遺伝子の組織における発現を解析した。野生型及び *esp1* 突然変異体の葉と登熟種子から mRNA を抽出し、ESP1/eRF1 特異的プライマーを用いた RT-qPCR とマイクロアレイ解析によって遺伝子発現解析を行った。*esp1* 突然変異体の葉及び登熟種子において、ESP1/eRF1 の遺伝子発現が認められた。ESP1/eRF1 特異抗体を用いた種子タンパク質の免疫ブロッティング解析の結果、*esp1* 突然変異の登熟種子において、ESP1/eRF1 タンパク質が検出されることを明らかにした。これらの結果から、*esp1* 突然変異体の CysP プロラミン量の減少は、種子において翻訳された ESP1/eRF1 がアミノ酸置換によって機能が喪失もしくは低下していることに起因すると推察した。

次に、ESP1/eRF1 の特異的な終止コドン認識機構を明らかにするために、終止コドン UAA、UGA、及び UAG を有する *Luciferase (LUC)* 遺伝子をレポーターとするコンストラクトで *esp1* 突然変異体と野生型を形質転換した。*esp1* 突然変異体の形質転換体の葉と種子において、終止コドン UAA と UAG を有する *LUC* 遺伝子の発現が野生型形質転換体と比べて、有意に減少することを明らかにした。これらの結果から、ESP1/eRF1 は終止コドン UAA と UGA を認識すると考察した。

さらに、ESP1/eRF1 が CysP プロラミン以外のタンパク質 mRNA の翻訳終結に関与するかどうかを明らかにするために、マイクロアレイ解析によって *esp1* 変異体の遺伝子発現プロファイリングを

行った。翻訳伸長反応が途中で停止した mRNA を分解する機構が知られている。開花後 7 日目の *esp1* 突然変異体登熟種子において、終止コドンとして UAA または UAG を有する多くの遺伝子の mRNA 量が減少することを明らかにした。開花後 14 日目の同種子において、UAA 終止コドンを有する全ての CysP プロラミン遺伝子の mRNA 量が野生型と比べて減少することを示した。プロラミン遺伝子は本来、開花後 7 日目の登熟種子ではほとんど発現しないことから、この差が生じたと推察した。これらの結果から、ESP1/eRF1 は UAA や UAG を有する mRNA の翻訳終結に関与すると考察した。

以上要するに、本論文はイネ種子貯蔵タンパク質プロラミン mRNA の翻訳終結因子の機能を明らかにしたものであり、植物遺伝学及び植物遺伝子資源学に寄与する価値ある業績と認める。よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。