

生命と化学

2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

白石 晃將

京都大学 大学院農学研究科
助教

有用物質生産性向上に向けたメタノール酵母の mRNA 動態制御

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、メタノール誘導性 mRNA の細胞内動態制御に関わる可能性のある因子として RNA 顆粒に着目し、メタノール代謝における役割の解明を目的とする。また、得られる知見を基に、mRNA の細胞内動態制御を通してメタノール酵母におけるタンパク質発現レベルが精密に調整可能か明らかにする。2021 年度は、メタノール誘導性 mRNA の細胞内動態を捉える系の構築と研究の軸となる酵母株の取得に取り組んだ。主な研究成果を以下三点に集約し報告する。

一点目はメタノール誘導性 mRNA の可視化系の確立である。系の確立には、メタノール誘導性 mRNA の中でジヒドロキシアセトンシンターゼ (*DAS*) の mRNA をモデルとした。これまでに、蛍光標識した U1A タンパク質と *DAS1* mRNA に U1A 結合部位を付加したもの (*DAS1* mRNA-U1Abinding site) を共発現させる U1A システムを用いて、生細胞で *DAS1* mRNA を可視化することには成功していたものの、その多くが液胞へと運ばれてしまうという課題があった。そこで本年度は、数種類のプロモーターを試すことで U1A タンパク質の発現量を最適化し、同タンパク質に核局在化シグナルを付加することで *DAS1* mRNA-U1Abinding site との結合効率を上げた。その結果、メタノール誘導時における細胞質内での *DAS1* mRNA の動態変化を蛍光顕微鏡で経時的に捉えることに成功した。

二点目は、RNA 顆粒の一種 processing body の代表的な構成因子 Edc3 と *DAS1* mRNA を可視化できる酵母株の取得である。二つの栄養要求性マーカーと一つの薬剤耐性マーカーを用い、三つの異なる発現ベクターを宿主酵母株に導入することで、Edc3 を Cerulean、*DAS1* mRNA を Venus 蛍光で捉えることに成功した。

三点目は、processing body の代表的な構成因子 Edc3 および Pat1 それぞれの欠損株を取得したことである。現在、各種遺伝子破壊株における顆粒形成を研究が進んでいる出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の報告と比較しつつ観察するとともに、*DAS1* などのメタノール誘導性遺伝子の発現量への影響を調べている。