

【目的】 生命のセントラルドグマの終端である翻訳過程に大きな未開のバイオロジーがあることがわかってきた。翻訳は、遺伝子読み枠 (ORF) 内の開始コドンから始まって最後に終止コドンにて終わるだけではない。非典型的な翻訳に関して近年、神経変性疾患に関与する塩基リピート配列内から、開始コドン ATG に依らない翻訳開始が起こり、細胞毒性を有する翻訳産物が合成されることがわかってきた。この非典型的な翻訳開始は「RAN (Repeat-Associated Non-ATG) 翻訳」と呼ばれ、これまでのアミロイド研究の枠を超えて神経変性疾患の分子機構解明の鍵を握っていると目されているが、その分子機構や細胞内でどのように RAN 翻訳が起こるのかなどよくわかっていない。そこで、本研究では、最近、開発された生細胞内で mRNA と複数の翻訳フレームの新生ポリペプチド鎖を可視化する系を応用して、細胞内での RAN 翻訳の分子機構に迫ることを目的とした。

【方法】 生細胞内で RAN 翻訳イメージングを行うためには 1 本の mRNA と各翻訳フレームの新生ポリペプチド鎖を可視化する必要がある。そのために 1 本の mRNA で複数の翻訳フレームを別々の蛍光で可視化できる実験系を用いて RAN 翻訳の可視化を試みることにした。具体的には、RAN 翻訳のターゲットとして、ALS の原因遺伝子 *C9orf72* が持つ (GGGGCC) *n* リピート配列を選択し、RAN 翻訳の可視化を行なった。本研究では、上原記念生命科学財団のサポートによって観察用のプラスミドを作製後、予備的な観察を東京工業大学で行ったのちに、共同研究先である米国コロラド州立大学の Tim Stasevich ラボで詳細な観察、解析を行う予定とした。

【結果と考察】 (GGGGCC) 80 リピートを含む *C9orf72* 遺伝子を複数の翻訳フレームを検出できるプラスミドに組込んだ。作製したプラスミドを新生ポリペプチド鎖可視化のための抗体、mRNA の可視化に使う MCP とともに細胞に導入しライブセルイメージングを行なった。その結果、RAN 翻訳 (0 フレーム) と見られる輝点が確認されたが、他のフレームは観察できなかった。予備研究が終了したところで渡米する予定であったが、新型コロナウイルスの感染拡大により、渡米が不可能となった。そこで、生細胞観察にも必要となる RAN 翻訳の分子機構解析を再構築型無細胞翻訳系で実施する系を立ち上げた。以上、上原記念生命科学財団の多大な支援を賜ることで、RAN 翻訳研究において世界的にも非常にユニークな実験系を確立することができた。最終的には、RAN 翻訳に関わる神経変性疾患の治療戦略や創薬にも結びつくことが期待される。

本研究の概念図

