

2A ペプチドのスキップ効率にコドン組成が与える影響

1190216 國信 友希

Effects of codon composition on skipping efficiency of the 2A peptide

Yuki Kuninobu

2A ペプチドは、上流と下流のタンパク質コード配列の間に配置されると、2A ペプチドの特定の位置のペプチド結合形成をスキップさせ、上流と下流の二つのタンパク質が分離して翻訳される。したがって、2種のタンパク質の共発現を可能とする配列であり、さまざまな応用が期待される。しかし、2A ペプチドのスキップ効率が使われているコドンの組成に影響を受けることが示唆されているが、そのメカニズムは明らかではない。

そこで、本研究ではコドンの出現頻度に注目し、2A ペプチド配列で使用されているコドンについて、それぞれのコドンの出現頻度の高い・低いがどのようにスキップ効率に影響を与えるかを調べた。この際、配列全体として見たときの出現頻度が高いコドンと低いコドンの割合、さらに出現頻度が高いコドンと低いコドンの位置関係を様々変えた 2A ペプチドを用いて、スキップ効率の違いを調べた。2A ペプチドとしては、スキップ効率が高いことが知られているブタテコスウイルス-1 由来の 2A (P2A) ペプチドを解析対象とした。目的タンパク質として Sox3、レポーター遺伝子として EGFP を用い、その間に P2A ペプチドを挿入した。Sox3 と EGFP には、両者の同時検出が可能になるようにペプチドタグとして FLAGx3 をそれぞれに付加した。以上の配列を持ち、P2A ペプチドのコドン組成がそれぞれ異なる 6 つの発現プラスミドを作製した。これらのプラスミドを用いて mRNA を調製し、ゼブラフィッシュに顕微注入した後、ウエスタンブロッティングでタンパク質の発現を分析し、現在それぞれの 2A 配列のスキップ効率を比較している。