

卒業論文要旨

ゼブラフィッシュ初期胚における翻訳効率に mRNA のキャップ構造と
ポリ(A)尾部が与える影響

1230258 濱本 崇典

Takanori Hamamoto

Effects of mRNA cap structures and poly (A) tail length on translation
in early zebrafish embryos

生体内で作られる mRNA は、5'末端にキャップ構造、3'末端にポリ(A)尾部を持っており、mRNA の分解を抑制するとともに、タンパク質の翻訳促進に寄与している。ゼブラフィッシュにおいて CRISPR-Cas システムをゲノム編集で使用する際、*in vitro* で合成した Cas9 mRNA を 1 細胞期胚へ顕微注入することで Cas9 を発現させることがある。この場合、Cas9 の翻訳のタイミングと発現量がゲノム編集効率に影響すると考えられるが、mRNA のキャップ構造やポリ(A)尾部長の違いが顕微注入直後のタンパク質発現に与える影響はよく分かっていない。そこで本研究では、異なる方法で付加したキャップ構造、および鎖長が異なるポリ(A)尾部を持つ NanoLuc mRNA を作製し、ゼブラフィッシュへ顕微注入した時のタンパク質発現効率を NanoLuc の発光強度を測定することで比較した。まず、*in vitro* で mRNA を合成する際に、キャップアナログあるいは酵素による修飾法でキャップを付加した。次に、3 種類の鎖長が異なるポリ(A)尾部を持つ mRNA を合成した。これらをゼブラフィッシュの初期胚に顕微注入し、NanoLuc の発光を測定した。現在、これらの測定を様々な発生ステージで行うことで、キャップ構造とポリ(A)尾部長がゼブラフィッシュ初期胚における翻訳に与える影響を定量的に調べている。