

参考資料

研究の背景

生物は体に必要なタンパク質を合成・利用して生きています。タンパク質は、
(1) 遺伝子の情報を写し取ったメッセンジャー（伝令）RNA が合成される転写反応
(2) そのメッセンジャーRNA の情報を基にタンパク質が合成される翻訳反応
という2段階で合成されます(図1)。

生物は自分にとって有害なウイルスなどの RNA を切断するしくみを備えていることが、1990年代になって明らかになってきました。その後の研究で、約20塩基の短い RNA 分子（短鎖 RNA）と AGO*² と呼ばれるタンパク質が複合体を形成し、短鎖 RNA と対になる RNA に結合して切断していることがわかりました(図2)。そして、これらの現象は RNA サイレンシングと呼ばれるようになりました。RNA サイレンシングは生物が生きてゆくために必要な遺伝子の働きの制御にも大きく関わっています。

これまでに短鎖 RNA が合成される仕組みや、短鎖 RNA は AGO と結合しないと機能をもたないことが明らかにされてきました。しかし、短鎖 RNA-AGO 複合体がどのようにしてできるのかは分かっていませんでした。

研究の内容・意義

RNA サイレンシングでは、約20塩基の短鎖 RNA が相補的な配列*³を持つ RNA (標的 RNA) を認識し、結合した RNA を切断して遺伝子の発現を抑制します。短鎖 RNA-AGO 複合体は、

- (1) 長い二本鎖の RNA が切断されて、二本鎖の短鎖 RNA となる
- (2) AGO というタンパク質と結合した後、二本のうち的一方の鎖が除去される
- (3) 残った鎖は AGO に保持され、RNA サイレンシングを引き起こす能力のある短鎖 RNA-AGO 複合体 (RISC*⁴) が完成する

という順序で作られることが分かっていました。

そこで、まず試験管内でタバコの AGO の一種である AGO1 タンパク質を合成しました。そこに人工的に合成した二本鎖の短鎖 RNA を添加すると、一方の鎖が除去され、残った一本鎖の短鎖 RNA と AGO1 の複合体が形成されました。次に標的 RNA を添加すると、一本鎖の短鎖 RNA の結合部位で標的 RNA が特異的に切断されたことから、RNA サイレンシングを引き起こす能力のある短鎖 RNA-AGO1 複合体が形成されたことがわかりました。

RNA サイレンシングの誘起には、分子シャペロン*⁵である HSP90 というタンパク質が必要だと考えられていました。そこで、HSP90 が働くために必要なエネルギー源となる ATP を反応液から除去すると短鎖 RNA-AGO 複合体形成が阻害されました。さらに、ATP の加水分解を阻害する ATP 擬似分子を反応液に加えて RNA 複合体形成反応を途中で停止させると、AGO1 に二本鎖短鎖 RNA が結合した中間体に HSP90 が結合していました。

この結果は、AGO と短鎖 RNA の結合に分子シャペロンが必要であることを示すものです。また、動物においても東京大学分子細胞生物学研究所の 泊 幸秀 准教授ら

により、同様の結果が報告されました（参考論文）。このことから、上記の機構は動物における RNA 複合体の形成にも当てはまると考えられます。

これらの結果から、RNA サイレンシングを引き起こす RNA 複合体の形成は、①ATP を結合した HSP90 が AGO1 と複合体を形成する、②HSP90 に結合した AGO1 に二本鎖の短鎖 RNA が結合する、③HSP90 に結合した ATP が加水分解され、AGO1-二本鎖短鎖 RNA 複合体が HSP90 から離れる、④これに伴い短鎖 RNA の一方の鎖が切断されて AGO1 から除去されるとともに、もう一方の鎖は AGO1 に保持される、⑤短鎖 RNA-AGO1 複合体が完成し、標的 RNA を認識することが可能になる、という流れであることが示されました(図3)。

今後の予定・期待

RNA サイレンシングは、ウイルスに対する防御だけでなく、内在する遺伝子の発現の調節、また、動く遺伝子による遺伝子の破壊を防止して自己のゲノムの安定性を維持することに重要な役割を果たします。このように RNA サイレンシングは多くの生命現象に関わっています。

本研究で確立された植物の試験管内 RNA 複合体の形成メカニズムを利用することによって、植物の RNA サイレンシングを引き起こす仕組みの生化学的解析研究が大きく進むことが期待されます。今後、さらに解析を進め、得られた知見に基づいて、ウイルスに対する RNA サイレンシングの機能を増強することによりウイルス病害を低減する方策の構築を目指します。

発表論文

Iki T., Yoshikawa M., Nishikiori M., Jaudal M.C., Matsumoto-Yokoyama E., Mitsuhara I., Meshi T., Ishikawa M.

In Vitro Assembly of Plant RNA-Induced Silencing Complexes Facilitated by Molecular Chaperone HSP90.

Molecular Cell (2010) Jul 30; 39(2): 282-291.

用語の解説

*1<短鎖 RNA>

RNA サイレンシングに係わる 20~30 塩基程度の短い RNA。二本鎖の状態では生成されますが、RNA サイレンシングを引き起こすときは一本鎖になっています。

*2<AGO>

RNA 複合体 (RISC) を構成する必須タンパク質の総称で、短鎖 RNA に結合し、RNA サイレンシングを引き起こす RNA 複合体になります。シロイヌナズナには 10 種類、イネには 19 種類の遺伝子が存在し、多様な RNA サイレンシングの経路の中で個々の AGO タンパク質がそれぞれ役割を分担して働いていることが知られています。本研究で用いた AGO1 タンパク質はウイルスに対する防御反応や植物の形態形成を司る RNA サイレンシングの経路の中で働きます。

*3<相補的な配列>

RNA は、アデニン (A)、ウラシル (U)、グアニン (G)、シトシン (C) という四種類の塩基と糖、リン酸から構成されています。RNA 中の A と U、あるいは G と C は対をつくる関係にあり、このことを「相補的」といいます。複数塩基にわたって相補的な二本の RNA は結合して安定な二本鎖になります。一本鎖の短鎖 RNA は、この性質を利用して、高い精度で標的 RNA に特異的に結合することができます。

*4<RISC>

RNA サイレncingを引き起こす RNA 複合体「RNA induced silencing complex」の略称。一本鎖の短鎖 RNA とタンパク質である AGO から構成されています。RISC は、短鎖 RNA と相補的な配列をもつ標的 RNA に結合し、標的 RNA を切断(図2)したり、リボソーム(標的 RNA の持つ情報を翻訳してタンパク質を合成する器官)による標的 RNA の翻訳を抑制して、タンパク質の合成を阻害します。

*5<分子シャペロン>

タンパク質の分子が正しい立体構造を取って機能を獲得するのを助けるタンパク質の総称。多くの分子シャペロンは、温度上昇によって発現が誘導される熱ショックタンパク質 (Heat Shock Protein: HSP) です。HSP のうちのひとつである HSP90 タンパク質は、いくつかのタンパク質に選択的に作用することが知られ、アデノシン三リン酸 (ATP) をアデノシン二リン酸とリン酸に分解する活性をもちます。

参考論文

Iwasaki S., Kobayashi M, Yoda M., Sakaguchi Y., Katsuma S., Suzuki T., Tomari Y.
Hsc70/Hsp90 Chaperone Machinery Mediates ATP-Dependent RISC Loading of Small RNA Duplexes.
Molecular Cell (2010) Jul 30; 39(2): 292-299.

【参考説明図】

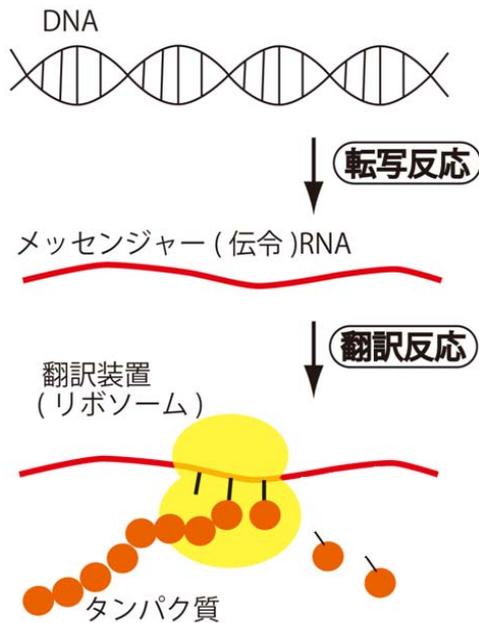


図1. DNAからタンパク質ができる過程

DNAの情報を転写したメッセンジャー (伝令) RNAがリボソームでタンパク質に翻訳されます。

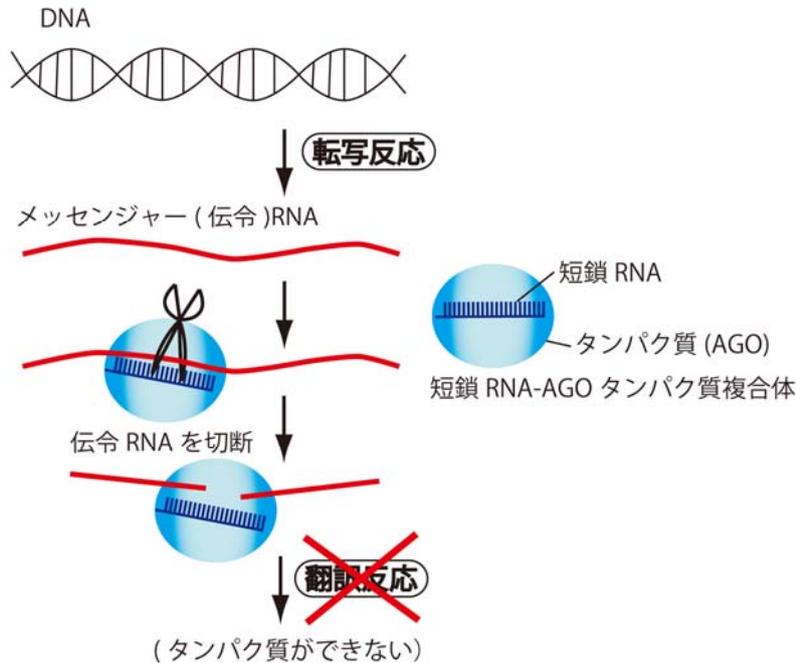


図2. 短鎖RNA-AGOタンパク質複合体の作用

短鎖RNA-AGOタンパク質複合体はメッセンジャーRNAの対になる部分に取りついてメッセンジャーRNAを切断します。その結果、翻訳反応が起こらず、タンパク質が生産されません。

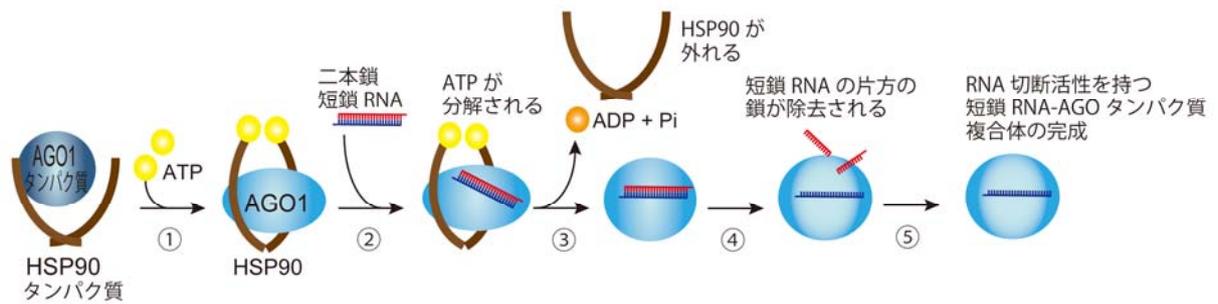


図3. RNA切断活性を持つ短鎖RNA-AGO1複合体形成のモデル

- ①HSP90 と AGO1 は ATP が結合することによって安定した複合体を形成します。
- ②HSP90 に結合している AGO1 に二本鎖短鎖 RNA が結合します。
- ③HSP90に結合しているATPの分解が起きると、HSP90はAGO1-二本鎖短鎖RNA複合体から外れます。
- ④AGO1-二本鎖短鎖RNA複合体からRNA鎖が一本除去されますが、もう一本の鎖は AGO1との結合を保ちます。
- ⑤RNA複合体（RISC）が完成し、標的RNAを切断する活性を獲得します。