

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：西野達哉

所属機関名・部局名・職名：東京理科大学・先進工学部生命システム工学科・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

植物 RNA サイレンシング機構に関与するタンパク質複合体の構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：中川 敦史 (研究室名：超分子構造解析学)

(5) 研究成果の概要 (公開)

高等植物において、RNA サイレンシングは形態形成、環境応答、防御機構などの生命現象に広く関わる。サイレンシング RNA 増幅機構は 22 塩基小分子 RNA と ARGONAUTE1 (AGO1) を含む RISC 複合体に切断された RNA から新たに siRNA を生成する経路である。RNA サイレンシングは小分子 RNA が配列特異的な標的 RNA の抑制に役割を果たす。この植物の小分子 RNA は、miRNA と siRNA に分かれている。Trans-acting siRNA (tasiRNA) は、シロイヌナズナの栄養成長期の相転換に異常を示す変異体の解析から見出した植物に特異的な内在性 siRNA の一種である。tasiRNA は、TAS2RNA を標的とする 22 塩基 miRNA と AGO1 に切断されて生成が始まる。この過程において、SDE5、SGS3、RDR6、DCL4 が生成経路に関わる遺伝子として同定されている。これらの分子のうち RDR6 や DCL4 はそれぞれ RNA 依存的 RNA ポリメラーゼおよび RNA ヘリカーゼとして作用することが知られている。一方、SDE5 や SGS3 は RNA に結合して作用することは知られているが、具体的にどのような構造で、どのように作用するか不明である。

最近の植物の再構成系を利用した研究より、SDE5 や SGS3 は RNA サイレンシング機構に必須で、AGO1 との複合体形成や RDR6 および RNA との複合体形成に重要な役割を果たすことが知られている。今年度は立体構造解析、生化学的解析、機能解析を目指して全長および構造ドメインの組換えタンパク質発現系構築に取り組んだ。その結果、全長 SDE5 と SGS3 組換えタンパク質に関しては、量は少ないものの再構成系での機能解析に使用可能な精製タンパク質を得ることに成功した。しかし、どちらも長い天然変性領域が存在するため、収量が悪く、容易に分解された。一方、構造ドメインコンストラクトは収量も高く、より安定であるため、構造解析に適していることがわかった。現在これらのコンストラクトの結晶化を行うとともに生化学的、機能解析を行っている。