

## 小分子 RNA の増幅機構を試験管内で再現！ ～植物の分化やウイルス制御に必要な小さな RNA を生み出すしくみを解明～

### 1. 発表者：

櫻井 友理希（東京大学 大学院新領域創成科学研究科 博士課程 3 年）  
Kyungmin Baeg（東京大学 大学院新領域創成科学研究科 博士課程 3 年（研究当時））  
Andy Y.W. Lam（東京大学 大学院新領域創成科学研究科 博士課程 1 年）  
庄司 佳祐（東京大学 定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野 助教）  
泊 幸秀（東京大学 定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野 教授）  
岩川 弘宙（東京大学 定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野 講師）

### 2. 発表のポイント：

- ◆植物の分化やウイルスの制御に必要な小分子 RNA 増幅機構を、試験管内で再構築することに世界で初めて成功しました。
- ◆開発した試験管内実験系を用いることで、小分子 RNA 増幅を開始する機構と、生成効率を制御する配列やルールを明らかにしました。
- ◆植物の発生やウイルスの制御機構の理解がさらに深まるだけでなく、将来、有用な作物を創出する際の基盤となることが期待されます。

### 3. 発表概要：

RNA 干渉 (RNAi) は 20 数塩基の小分子 RNA が、その小分子 RNA と相補的な配列を持つ標的遺伝子の発現を抑制する機構です。この機構は多くの生物で共通しており、様々な生命現象を緻密に制御しています。植物には、小分子 RNA の標的 RNA から二次的な小分子 RNA を生み出すことができる「小分子 RNA 増幅機構」が存在し、植物の分化やウイルスの制御に重要な役割を果たしています。しかし、その生成機構は多くの因子が関わる複雑な反応であるため、詳細な分子機構は不明なままでした。

今回、東京大学 定量生命科学研究所の櫻井友理希大学院生、Kyungmin Baeg 大学院生（研究当時）、Andy Y.W. Lam 大学院生、庄司 佳祐助教、泊 幸秀教授、岩川 弘宙講師の研究チームは、植物細胞抽出液を用いることで小分子 RNA 増幅機構を試験管内で忠実に再現することに成功しました。さらに、この試験管内実験系を用いることで、小分子 RNA 増幅を開始する機構と、生成効率を制御する配列やルールを明らかにしました。本研究により、植物の発生やウイルスの制御機構の理解が深まるだけでなく、将来、有用な作物を創出する際の基盤となることが期待されます。

### 4. 発表内容：

私達ヒトは、一度ウイルスに感染すると、二度目の感染では症状が軽くなることが知られています。この機構は「獲得免疫」（注1）と呼ばれ、感染した病原体の情報を記憶し、抗体などを介して再感染時に強い防御反応を促すことができます。新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）との戦いにおいても、ワクチン接種をすることで、感染時に迅速な抗体産生を促し、効率的にウイルスを不活化することができます。一方、獲得免疫が存在しない植物はどのようにウイルス感染に対処しているのでしょうか？

植物は抗体の代わりに、20 数塩基の小分子 RNA を使うことで、全身でウイルスに対する抵抗性を発揮します。RNA ウイルスが植物細胞に感染すると、細胞の中でウイルスゲノム RNA を複製します。その際に作られる長い二本鎖 RNA を、二本鎖 RNA 切断酵素であるダイサー様タンパク質 (DCL) が発見し、切断することで小分子干渉 RNA (siRNA) と呼ばれる小分子 RNA が作り出されます。ウイルス由来の siRNA はアルゴノート (AGO) と呼ばれるヌクレアーゼと RISC と呼ばれる複合体を形成し、感染部位に存在するウイルス RNA を配列特異的に切断することで、ウイルスの増殖を抑制します。また、植物細胞は動物細胞とは異なり、原形質連絡とよばれる微細な通路で細胞と細胞がつながっているため、siRNA はその通路をくぐりぬけ、師部に到達すると茎を通して全身の組織に広がります。感染部位から遠く離れた組織では僅かな量の siRNA しか運ばれませんが、植物は「小分子 RNA 増幅機構」という、ヒトにはない小分子 RNA を「増やす」機構を用いて、再感染した部位で大量の siRNA を迅速に作成し、極めて強いウイルス抵抗性を発揮します。その際、先ず、ウイルスを待ち構えていた siRNA は、再感染したウイルス由来の RNA に RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ 1/6 (RDR1/6) と呼ばれる酵素を連れてきます。次に、RDR1/6 はウイルス RNA を強制的に二本鎖 RNA に変換します。その後、DCL がその二本鎖 RNA を切断することで、大量の二次的 siRNA を生み出します。この二次的 siRNA は AGO と新しい RISC を形成し、ウイルスゲノム RNA を迅速に切断します。この機構により、獲得免疫を持たずとも、植物はウイルスの二次感染を非常に強く抑制することができるわけです。また、小分子 RNA 増幅機構は、ウイルスに対してのみならず、植物の特定の遺伝子に対しても働くことが知られており、発生や環境ストレス応答に重要な二次的 siRNA を生み出すことがわかっています。

この様に、小分子 RNA 増幅機構は、植物の様々な生命現象を制御する極めて重要な機構であるにも関わらず、詳しい分子機構は謎に満ちていました。特に、RISC が標的 RNA に結合した後に RDR6 が積極的に標的 RNA を二本鎖化する機構は明らかになっていませんでした。研究が進まない最大の原因は、多くの因子が関わる複雑な反応を生化学的に解析する実験系が欠如していたことでした。

今回、研究グループは、小分子 RNA 増幅機構を試験管内で再現する実験系の開発に、世界で初めて成功しました。この系を用いることで RDR6 が SDE5 (SILENCING DEFECTIVE5) や SGS3 (SUPPRESSOR OF GENE SILENCING3) と呼ばれる植物因子の助けをかりて標的 RNA 上に呼び込まれることを明らかにしました。また、小分子 RNA 増幅を制御する配列やルールを発見しました。

本研究は、植物の分化やウイルス制御に必要な二次的小分子 RNA が生み出されるしくみを解明した大きな発見と言えます。また、これらの知見は、将来有用な作物を創出する際の基盤となることが期待できます。

## 5. 発表雑誌：

雑誌名：「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」

論文タイトル： Cell-free reconstitution reveals the molecular mechanisms for the initiation of secondary siRNA biogenesis in plants

著者： Yuriki Sakurai, Kyungmin Baeg, Andy Y.W. Lam, Keisuke Shoji, Yukihide Tomari\* (責任著者), Hiro-oki Iwakawa\* (責任著者)

DOI 番号：10.1073/pnas.2102889118

## 6. 問い合わせ先：

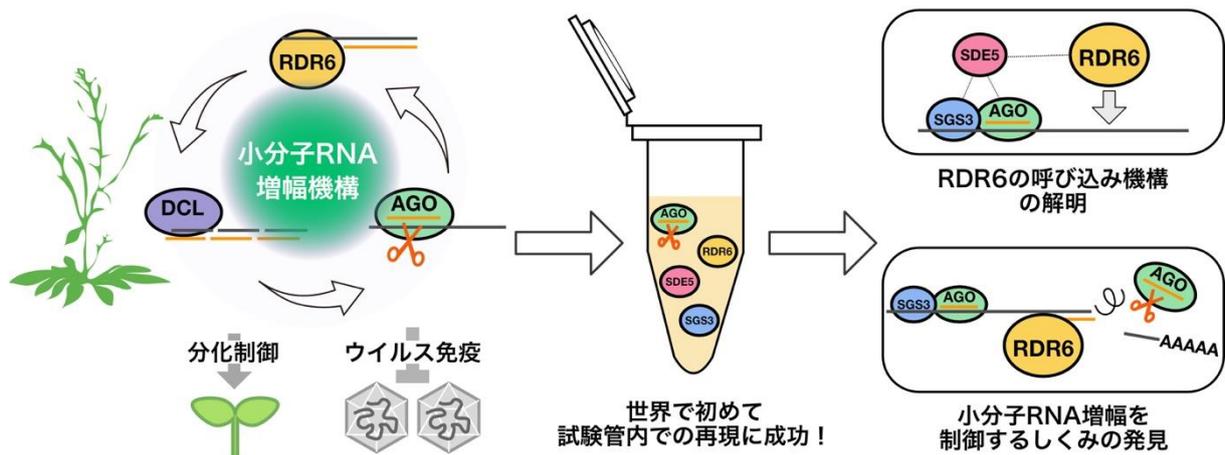
東京大学定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野 講師  
岩川 弘宙 (いわかわ ひろおき)  
電話: 03-5841-7894  
E-mail: iwakawa@iqb.u-tokyo.ac.jp

## 7. 用語解説：

(注1) 獲得免疫

適応免疫とも呼ばれる、後天的に得られる防衛機能のこと。T 細胞（キラーT 細胞、ヘルパー T 細胞など）や B 細胞などのリンパ球が中心となって働きます。B 細胞は病原体に特異的に認識する抗体を大量に作り出します。抗体は全身に循環し、マクロファージによる病原体の貪食を助けたり、ウイルスや毒素に結合することで感染性や毒性を失わせたりする効果を持ちます。応答までにかかる時間は長いですが、病原体を記憶することができるため、繰り返し感染した場合は初回よりも早く活性化し、より効率的に病原体を排除することができます。

## 8. 添付資料：



図：植物の小分子 RNA 増幅機構を世界で初めて試験管内で再現することに成功しました。この新しい実験系を用いることで、RDR6 の呼び込み機構を解明し、小分子 RNA 増幅を制御する配列やルールを発見しました。