

○多比良 和誠

東京大学大学院 工学系研究科 化学生命工学専攻

(独立行政法人 産業技術総合研究所 ジーンファンクション研究センター 兼任)

RNA interference (RNAi)は遺伝子をノックダウンする有効な手段として、最近、特に注目を集めている。サイレンシングのメカニズムに関してもこれまでまったく知られていなかった新規なパスウェイの存在が明らかになり、それに関わる新規分子がつぎつぎに発見されており、ゴールドラッシュ的な様相を示している。当初、哺乳類細胞に対しては、二本鎖 RNA がインターフェロン反応による非特異的な阻害効果を引き起こすため、RNAi によるノックダウンは難しいと考えられてきたが、中間体である短い RNA (siRNA) を用いることにより、この経路を回避し、非常に低濃度の siRNA を用いても遺伝子の抑制が可能であることが報告され、分子生物学における様々な実験への応用や、RNAi をガンやウイルスなどの医薬品としての可能性への道が開けた。さらに、我々は最近、インターフェロン応答を誘導しない長い二本鎖 RNA 発現ベクターの設計にも成功したリボザイムは、その基質と結合する部位の塩基配列と相補的な配列を持つ基質 RNA を認識・結合してそれを切断するという RNA 酵素である。このリボザイムは RNAi が広く用いられる

ようになる前、アンチセンス法などと同様に細胞内の標的遺伝子の発現抑制を目的として、切断対象となる遺伝子に合わせて設計し用いられてきた。つまり、RNAi の戦略と同様、選択的に mRNA を切断・分解させることで、mRNA から蛋白質へ翻訳を阻むことで遺伝子の機能阻害を狙うことができる。近年、我々は目的の表現形に基づいて網羅的に遺伝子探索する手法を確立した。ポイントはリボザイムの基質認識部位をランダム化したことである。このランダム化したリボザイムの発現ベクターのプール (以下リボザイムライブラリーと呼ぶ) を細胞集団に発現させた場合、それぞれ異なった遺伝子の発現が抑制された細胞集団を調整することができる。この細胞群へ何らかの刺激を与えた後に表現形の変化を指標に対照群と異なった表現形を獲得した細胞の単離し、その細胞内で発現するリボザイムの基質認識配列情報の決定をすることで、その変化の原因となる標的遺伝子の同定ができる。この手法を用いて、細胞の運命を決める小さな RNA を発見した。

ヒトの全遺伝子は3万から4万存在すると言われているが、その遺伝子をどう動かすかを決定しているのは数百の小さなRNAである可能性がある。従って、これらの小さなRNAの機能解析は、遺伝子の制御を自由に行う方法の開発につながる。その結果、再生工学で現在作成できないような肝臓などの臓器が作成可能となるだけでなく、遺伝子制御部位を標的にした医薬品の開発など、医学分野に広く応用される技術がもたらされる。siRNAを含めたこれらの小さなRNAのデリバリーシステムの開発も進んでおり、核酸医薬の登場も間近であろう。

【参考文献】

- (1) Zhou, D.-M. and Taira, K. *Chem. Rev.*, **98**, 991-1026 (1998); (2) Kuwabara, T. *et al. Nature Biotechnology*, **16**, 961-965 (1998); (3) Kawasaki, H., *et al. Nature*, **393**, 284-289 (1998); (4) Kuwabara, T. *et al. Mol. Cell*, **2**, 617-627 (1998); (5) Kuwabara, T. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 1886-1891 (1999); (6) Tanabe, T. *et al. Nature*, **406**, 473-474 (2000); (7) Warashina, M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 5572-5577 (2001); (8) Kato, Y. *et al. J. Biol. Chem.*, **276**, 15378-15385 (2001); (9) Takagi, Y. and Taira, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 3850-3852 (2002); (10) Tanaka, Y. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 4595-4601 (2002); (11) Suzumura, K. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 8230-8236 (2002); (12) Kawasaki, H. *et al. Nature Biotechnology*, **20**, 376-380 (2002); (13) Kawasaki, H. and Taira, K. *EMBO Rep.*, **3**, 443-450 (2002); (14) Onuki, R. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 14716-14721 (2002); (15) Miyagishi, M. and Taira, K. *Nature Biotechnology*, **20**, 497-5000 (2002); (16) Wadhwa, R. *et al. EMBO Rep.*, **4**, 595-601 (2003); (17) Suyama, E. *et al. Cancer Res.*, **63**, 119-124 (2003); (18) Suyama, E. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 5616-5621 (2003); (19) Nelson, L. D. *et al. TARGETS*, **2**, 191-200 (2003); (20) Tanaka, Y. *et al. J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 744-752 (2004); (21) Onuki, R. *et al. EMBO J.*, **23**, 959-968 (2004); (22) Kuwabara, T. *et al. Cell*, **116**, 779-793 (2004); (23) Kawasaki, H. and Taira, K., *Nature*, **431**, 211 – 217 (2004) ; (24) Shiota, M., *et al. J. Biochem.* **136**, doi: 10.1093/jb/mvh119 (2004)