



RNAiとゲノム構造変換への干渉

片山 論

2006年度のノーベル医学生理学賞がRNAi(interference: 干渉)機構を発見したFireとMello両博士に贈られ、同化学賞も遺伝子の転写の分子基盤を解明したKornberg博士が受賞した。どちらも遺伝子の機能発現・制御プロセスにおけるRNAの分野を切り開いたパイオニアとしての功績は大きく、RNAiは長らく不変であったセントラルドグマの一部書き添えが必要なくらい分子生物学の中枢に切り込んだものとなっている。

今から十数年前、遺伝子発現を抑制する種々の方法が試みられていた中で、筆者も卒業研究として悪戦苦闘していたのが植物中での遺伝子発現の抑制法の開発であった。当時は標的遺伝子のアンチセンスRNAを発現させ、mRNAとの二本鎖RNA形成を誘導し、翻訳を阻害することが主流だったと思う。それから数年がたち、線虫(*C. elegans*)の系でdsRNA(double stranded RNA)による選択的な遺伝子発現の抑制を初めて耳にしたときの「本当に二本鎖RNAで?」という違和感は今でもよく記憶している。しかもdsRNAによる抑制効果はアンチセンスRNAやセンスRNAのそれよりも桁違いに効率的だという。当時、その知見に関しては筆者のみならず筆者の周辺でもなかなか受け容れ難いという雰囲気もあったが、今にして思うと二本鎖RNA干渉のメカニズムはそれほど衝撃的だったといえる。

RNAiの特徴は二本鎖の非常に短いRNA分子(small interfering: siRNA)が細胞内で作られ、同じ配列を有する遺伝子を抑制することにある。まず、細胞内に長い二本鎖RNA分子が入るとRNaseⅢリボヌクレアーゼファミリーに属する酵素であるDicer(dice=サイコロ状に切断するという意)がそれを認識して細切れにし、二本鎖の21~24 bpのsiRNA分子を作り出す。この低分子二本鎖RNAは特徴的で作り出される塩基対はそれ以下でもそれ以上でもなく、しかも3'側に2塩基の突出がある。作り出された20数塩基対のsiRNAはその後、ヘリカーゼにより巻き戻されそのうちの一本鎖がRISC(RNA-induced silencing complex)に取り込まれて複合体の一部として機能する。すなわち、取り込まれたsiRNAと相補的配列を持つmRNAと相互作用することでRISCをmRNAに結合させて、そのmRNAの切断を誘導する。

切断されたRNAはその後、Exo型リボヌクレアーゼにより消化される。本経路を際立たせているのは、DicerとRISCであり、両触媒反応の分子機構は非常に興味深い。線虫や植物、分裂酵母ではRdRP(RNA dependent RNA polymerase)が見つかっており、siRNA→RdRP→dsRNA→siRNAというRNAiサイクルも報告されている。本経路のきっかけとなる二本鎖RNAの起源としては合成された人為的分子に加えて、ウイルス由来やゲノムの両方向性の転写によるもの、RdRPによるものなどがあるが、脊椎動物ではまだRdRPは見いだされていない。

ところで、植物や分裂酵母でRNAiがヘテロクロマチンのサイレンシングに関与しているという興味深い知見も出てきた。分裂酵母ではセントロメアやテロメアなどがヘテロクロマチン構造となりサイレントな(遺伝子発現が極端に抑制されている)状態とされている。従来、本領域のサイレント化にはヒストンH3のK9のメチル化とそれを認識するヘテロクロマチンタンパク質HP1の結合が重要であることはわかっていた。最近、DicerやRNAポリメラーゼⅡのサイレンシングへの直接の関与を示す結果も報告された²⁾。これにより、RNAポリメラーゼによる転写活動が行われていないことがサイレンシングの実態であるとそれまで考えられてきたことが、①ヘテロクロマチン領域でもRNAポリメラーゼⅡによる転写が実際には行われ、mRNAがつくられていること、②転写によりつくられたmRNAがDNA上から解離する前に、RITS複合体(分裂酵母のRISC様複合体)がmRNA上に結合すること、③その結果として、DNA上でDNA-RNA-RITSの高次複合体が一時的に形成され、これがヒストンH3のK9のメチル化を誘導することでヘテロクロマチンの成立に重要な役割を果たすことを明示している^{3,4)}。この例が示すように、RNAiが多様なゲノムの構造変換へ干渉する可能性を秘めており、本分野の奥深さを垣間見る気がして更なる解析が待ち遠しいかぎりである。

- 1) Fire, A. *et al.*: *Nature*, **391**, 806 (1998).
- 2) Kato, H. *et al.*: *Science*, **309**, 467 (2005).
- 3) 村上: 蛋白質核酸酵素, **51**, 54 (2006).
- 4) Buhler, M. *et al.*: *Cell*, **125**, 873 (2006).

著者紹介 島根大学生物資源科学部生命工学科(准教授) E-mail: katayama@life.shimane-u.ac.jp