

RNA が開く、ゲノムの新たな扉

西村尚子（サイエンスライター）

日本佳代美

マウスの場合、全ゲノムの約 95% はタンパク質をコードしていないが、その 70% 以上の領域が RNA に写し取られていることが明らかになった。タンパク質を作らない RNA は、何をしているのか？ RNA の多彩な役割が解明されつつある。

「ゲノムの大半は、がらくた」。こうした見解が誤りであることが、ますますはっきりしてきた。ヒトの場合、全ゲノム 30 億塩基対のうち、遺伝子として機能する部分は、わずか 2% ほどしかないことがわかっている。残りの大半は、ほぼ不要なものであると解釈されてきたが、最近になって「そんなはずはない」と考える研究者が、少しずつ増えてきたところだった。

たとえば、東京大学医科学研究所遺伝子動態分野の中村義一教授は、「ヒトの遺伝子は 2 万 2000 個ほどで、体長わずか 1 ミリの線虫の遺伝子数とほぼ同じだ。同じ遺伝子数で、ヒトははるかに複雑な生命現象を営んでいる。複雑さをもたらすような未知のしかけが、

遺伝子以外のゲノムにあるにちがいない」と考えて研究を続けてきた。

このような状況のなか、2005 年 9 月に、理化学研究所ゲノム科学総合研究センター遺伝子構造・機能研究グループの林崎良英博士らは、マウスゲノムで実に 70% 以上の領域が RNA に写し取られていることを明らかにした。これらの RNA のうち 53% は「タンパク質を合成する」という遺伝子発現の機能を担っていなかった。タンパク質を作らない RNA は、いったい何をしているのか？ 実は、そこに「未知のしかけ」を解くヒントが隠されていた。

転換期を迎えた RNA 研究

RNA は DNA と同じように、4 種の異

なる塩基が鎖状に連なった構造をもつが、二重鎖の DNA とは異なり、通常は一本鎖やループ状をしている。鎖の骨格はリン酸と糖からなるが、DNA が糖としてデオキシリボースをもつのに対し、RNA はリボースをもつ。また、DNA は塩基としてアデニン (A)、チミン (T)、グアニン (G)、シトシン (C) をもつが、RNA は T のかわりにウラシル (U) をもっている。

RNA 研究は、1960 年代の分子生物学の登場とともに始められた。最初に行われたのは、DNA の遺伝情報が発現され、タンパク質が合成される過程で仲介役をつとめる伝令 RNA (mRNA)、転移 RNA (tRNA)、リボソーム RNA (rRNA) の構造と機能についてだ。そ

して「DNAの情報がRNAへ転写されるしくみ」「転写されたRNAの情報がリボソームに運ばれるしくみ」「3つの塩基が1つのアミノ酸に翻訳されるしくみ」などが明らかにされていった。

1980年代に入ると、トム・チェックとシドニー・アルトマンによって、自らのRNA鎖を切断したり、連結したりする反応を触媒するRNA（リボザイム）が発見され、RNAの動的な機能が注目されるようになった。続いて、フィリップ・シャープが、真核生物のmRNAは遺伝子発現に必要な部位のみが切り出されてつながれていること（スプライシング）を突き止め、そのメカニズムを明らかにした。これら2つの研究には、1990年を前後して、ノーベル賞が授与された。

1990年代には、RNAの動的機能を解明する流れがさらに加速し、これまで想像されなかった多様なメカニズムが明らかにされていった。その最たるものは、1998年にアンドリュー・ファイアーとクレイグ・メローによって発表された「RNAi（RNA干渉:RNA interference）」だろう。これは、30塩基対ほどの二本鎖のRNA断片を細胞に導入すると、きわめて強力に遺伝子発現が抑えられる現象だ。ほどなくRNAiは、線虫やショウジョウバエの遺伝子をノックダウンする手法として、広く用いられるようになった。

ただし、30塩基対ほどのRNA断片をほ乳類の細胞で使おうとすると、「インターフェロン応答」とよばれる免疫反応が引き起こされ、細胞死してしまうのが難点だった。ところが2001年に、トーマス・トゥッシュェルらが、20塩基対程度の短いRNAであれば、ほ乳類細胞でも遺伝子発現を抑制する効果が得られることを明らかにした。現在、RNAiは遺伝子ノックダウンの有力な手法として、世界中の研究室で使われるようになっている。

30塩基対程度の断片によるRNAi現象は、昆虫、植物、菌類、分裂酵母などのさまざまな生物種間で保存されて

いる。いずれも、病原微生物やウイルスなどの侵入を核酸のレベルで防御する目的があると考えられているが、ごく最近になって、21~22塩基対の小さなRNA（マイクロRNA:miRNA）の存在が明らかになり、遺伝子発現機能の調節、発生・分化の制御といった新たな機能にも注目が集まっている。

RNA新大陸の発見

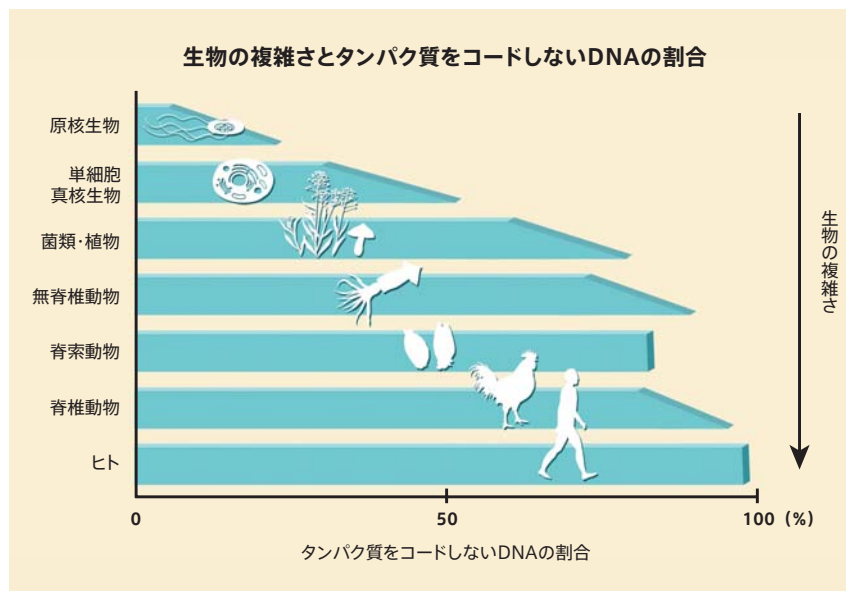
こうしてRNA研究に新風が注がれるなか、理化学研究所は、1995年に「マウスゲノムエンサイクロペディア計画」を立ち上げた。目的は、マウスが受精・発生・分化を経て成長するまでに、ゲノムのどの領域が読まれているのかを、転写されるRNAを用いて調べることだ。プロジェクトリーダーに着任した林崎博士は、7年をかけて、マウス個体のあらゆる発生段階のRNAを集め、そこから6万個ものDNA（完全長cDNA）を写しとる作業を行った¹。

その後2005年までに、これらのcDNAから同定された約4万の遺伝子（TU; Transcriptional Unit）のうち2万3000個以上がタンパク質を作り出していないことが明らかになっ

た²。これらのcDNAのもとになったRNAは、「タンパク質をコードしない」という意味から「non-coding RNA（ncRNA、非コードRNA）」とよばれるようになっていく。さらに林崎博士は、タンパク質をコードするmRNAとncRNAを合わせると、全ゲノム配列の実に70%以上が読まれて、RNAに転写されていることを明らかにした。

ここで、「タンパク質をコードする役目をもたない領域が、なぜRNAに転写されているのか」という最大の疑問が浮かび上がることになる。林崎博士はこの疑問に答えるために、病原体などの異物を飲み込んで破壊する免疫細胞（マクロファージ）が、分化・成熟していく現象を利用した。ncRNAに何らかの重要な機能があるとすれば、ncRNAを作り出せないようにしたときに、正常なマクロファージが作られなくなるだろうと予想したのだ。

「実は、少し前から、ncRNAに遺伝子発現を調節する機能があるとしたら、その一部は『DNAの両方の鎖が読まれる領域』から作り出されているらしいということ突き止めていた」。そう話す林崎博士は、マクロファージが成熟



簡単な構造をした原核生物から、真核生物、脊椎動物など複雑な生物になるほど、タンパク質をコードしないDNA領域が多く存在することが明らかになってきた。ヒトでは、全ゲノムの98%がタンパク質の情報をもたないと考えられている。

日本佳代美

していく過程で ncRNA に転写される DNA 領域のなかから、「DNA 二重らせんの両方の鎖（センス鎖とアンチセンス鎖）が読まれる領域」を選び出し、それぞれの鎖を別々にロックダウンして、その影響を調べた。

結果は、林崎博士の予想どおりだった。ncRNA をロックダウンすると、正常なマクロファージは作られなかったのだ。「一連の研究結果は、ncRNA に『遺伝子が、いつ、どこで、どの程度はたらくべきかを調節する機能』が秘められていることを明確にあらわすものとなった。がらくただと思われていたゲノムにこのような RNA を作り出す領域があったことから、『RNA 新大陸』とよぶようになったが、こうした事実は、従来の遺伝子の定義をゆさぶるほどの衝撃を与えたかもしれない」。林崎博士は、そうコメントする。

明らかにされる ncRNA の多彩な機能

ヒトゲノムをはじめ、すでに 250 種ほどの生物ゲノムが解読されている。その結果、脊椎動物、ほ乳類などの高等生物になればなるほどタンパク質をコードしない DNA 領域が多く存在することがわかってきた。その割合は、大腸菌などで 10~30%、カビや植物で 70~80%、マウスで 95% ヒトでは 98% といった具合になる。タンパク質をコードしない DNA 領域のこうした割合は、各々の生物種における ncRNA の数とほぼ相関

関係にあると考えられる。つまり、最も ncRNA の数が多いのはマウスやヒトなどのほ乳類で、最も少ないのは大腸菌などのバクテリアだと解釈できる。

「高等生物になるほど多くみられる ncRNA こそ、複雑な生命現象を維持する機構を担うものだろう」。日本の RNA 研究の第一人者である中村教授は、そう考える。自身は、「分子擬態」というあまり耳慣れない分野の研究を行っている。擬態は、昆虫が色や形を葉に似せて外敵から身を守るなど、生態系の中ではよくみられる現象だ。

同様の擬態が、分子レベルの生命現象でもみられる。たとえば、マラリア原虫はヒトの免疫システムを回避するために、ヒトの赤血球上で発現している遺伝子とほぼ同じ配列をゲノムにもっている。自らの体を、ヒトに似せたタンパク質でおおうことで、抗原として認識されるのを防いでいるのだ。

「生体高分子のレベルでも、タンパク質が RNA のある構造を擬態する現象がある」と中村教授。タンパク質と RNA は、素材がまったくちがう。にもかかわらず、大きさも形も同じような構造体が存在し、その機能までが似通っているという。「たとえば、約 80 塩基対からなる tRNA と、185 個のアミノ酸からなるリボソーム再生因子というタンパク質は、立体構造や分子量がそっくりで、働き方も似ている」と話す。

tRNA とリボソーム再生因子は、と

に、リボソーム上でタンパク質を合成する際に働くが、一方の tRNA は遺伝子がコードするアミノ酸を運んでくるのが仕事で、他方のリボソーム再生因子は、リボソーム・mRNA・tRNA からなるタンパク質合成装置を解体する役割を担う。このほかに、tRNA の位置をずらすタンパク質や、tRNA にかわって終止コドンを読み解くタンパク質もあり、こうしたタンパク質も、構造の一部が tRNA によく似ているという。

これらはいずれも、タンパク質が RNA の形を擬態したもので、バクテリアなどの下等生物からヒトにいたるまで普遍的にみられるしくみだ。中村教授は「逆に、RNA がタンパク質を擬態するメカニズムもあるはずだ」と考えている。そして、「そのメカニズムこそ、高等生物だけが獲得した ncRNA の遺伝子発現調節機構にちがいない」と確信している。

RNA アプタマーという概念の誕生

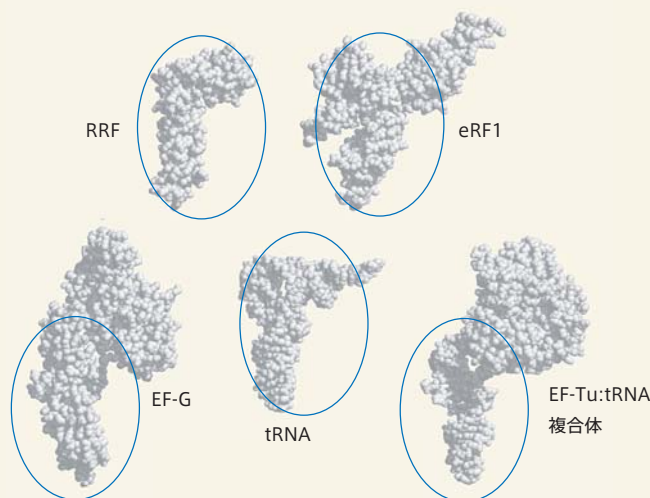
タンパク質をコードする mRNA、短い RNA 断片による RNAi、林崎博士が解析した ncRNA は、いずれも塩基配列の相補性に依存して機能を発揮する。ところが、中村教授が提唱する ncRNA の機能は、配列にはではなく、RNA の立体構造そのものに依存すると考えられる。

すでに中村教授は、次のような実験によって、自らの考えが可能性としてあり得ることを示している。まず、比較的扱いやすい 40~50 塩基対からなる 1 本鎖の RNA をランダムに作り、自由な立体構造をとらせる。RNA は 4 種の塩基からなるので、理論上の組み合わせは $4^{40} \sim 4^{50}$ 通りになる。もちろん、そのすべてを作ることは不可能なので、そのうちのごく一部をランダムに作ることにする。次に、「セレクト法」とよばれる特殊な手法を用いて、ランダムに作った RNA の中から、目的のタンパク質に形が似ているものを探し出す。似ているものがまったくなければ、「次のひとすくい」を試すことになるが、セレクト法では、少しでも似ているものがあれば、その RNA の配列を人工的

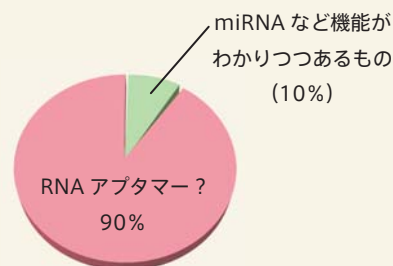
RNA の多彩な機能

	機能	種類	
構造性 RNA	転写・翻訳にかかわる	mRNA	非コード RNA (ncRNA)
	転写・翻訳にかかわる	rRNA	
	転写・翻訳にかかわる	tRNA	
機能性 RNA	触媒作用をもつ	リボザイム	
	スプライシングにかかわる	mRNA 前駆体	
	RNA 干渉作用をもつ	miRNA, siRNA	
	遺伝子発現（分化・増殖・アポトーシスなど）を調節	miRNA, mRNA 上の制御スイッチなど	
	代謝物に結合する	RNA アプタマー, リボスイッチ	
	分子擬態作用やタンパク結合性をもつ	RNA アプタマー	
RNA 修飾にかかわる	snoRNA, guideRNA など		

tRNA と翻訳因子の間の分子擬態



非コード RNA の内訳



左の5つの分子モデルは、tRNAとそれを擬態したさまざまなタンパク質である。丸で囲んだ部分の構造がよく似ているのがわかる。分子擬態したタンパク質は、tRNAにかわって終止コドンを読み解いたり、tRNAの位置をずらすなど、さまざまな機能をもつと考えられている。上は非コードRNAの内訳を表したグラフ。東京大学の中村義一教授は、タンパク質をコードしないRNAのうち、miRNAなどの機能がわかりつつあるものは全体の約10%で、残りの90%のほとんどは、RNAアプタマーとしての機能を持っているのではないかと考えている。

に操作することで、より似ているものへと改変することができる。改変操作を繰り返すと、目的の立体構造をもつRNAがかなりの確率で得られるという。

「すでに、ホルモンやサイトカインを擬態したRNAを作る作業を始め、第一世代のRNAを分離した³。ただし、これらのRNAは、レセプターに結合することで、ホルモンやサイトカインの結合を阻害するタイプのもの。将来的には、レセプターに結合して生理作用をもつようなアゴニスト的なRNA、たとえばインシュリン分泌を促すようなRNAを作りたい」と中村教授。

このような、タンパク質様の機能をもつRNAは「RNAアプタマー」とよばれる。RNAアプタマーは、未知のゲノム機能を調べるためだけでなく、創薬や診断技術の開発にも応用できると期待される。特に注目されるのは、RNAアプタマーがほかのタンパク質と相互作用するときに発揮する強い親和性や結合力で、すでに抗体の1000倍もの結合力をもつRNAが得られているという。

ぞくぞくと発掘される「お宝」

ヒトゲノムの98%を占める「タンパク質をコードしない領域」に対して、日

夜「未知なる、お宝」を求めた発掘作業が続けられている。ごく最近では、2005年12月に、東京医科歯科大学難治疾患研究所の石野史敏教授らによって、ほ乳類ゲノムの3分の1以上を占める「レトロトランスポゾン」とよばれる配列の一部から、母体と胎児をつなぐ胎盤を作る際に必要な*Peg10*という遺伝子が作り出されていることが明らかにされた⁴。レトロトランスポゾンは「動くDNA」と称される配列で、自らをコピーしてはゲノムの他の部位にペーストするという特異な性質をもつ。

石野教授らは、*Peg10*遺伝子を破壊した受精卵をメスのマウスに移植すると、胎盤形成が異常になり、受精10日目すべての胚が死んでしまうことを確かめた。この結果について石野博士は、「ほ乳類の共通祖先の時代に、*Peg10*遺伝子がウイルスなどによってゲノム中に持ち込まれ、進化にともなって胎盤形成のために使われるようになったのではないかとコメントしている。

さまざまな生物種で膨大な量のゲノム情報が蓄積されるにつれ、遺伝子とともに、タンパク質をコードしない領域の解析もますます重要になっている。こうした解析の一部は、配列情報をも

とにしたバイオインフォマティクスにより可能だと思われる。しかし、RNAアプタマーのような、配列に依存しないRNAの解析には、現在のゲノム科学の手法では歯が立たない。中村教授は、「RNAアプタマーは、今のところ、ごくわずかの例しか知られておらず、網羅的に扱うことが不可能だ。この状況を打破するには、解析や分析のためのまったく新しい基盤技術が必要だ」と話す。

ncRNAは時間を追って、非常にすばやく変化し、その量もごく微量だと考えられる。これらをもれなくとらえて解析するのは、至難の技だろう。ただし、ncRNAが相互作用する相手の多くはタンパク質。タンパク質研究を得意としてきた日本ならではの発想で、新たな解析基盤が作り出されることを期待したい。

1. The FANTOM Consortium and the RIKEN Genome Exploration Research Group Phase I & II Team, *Nature* **420**, 563-573 (2002)
2. The FANTOM Consortium and RIKEN Genome Exploration Research Group and Genome Science Group, *Science* **309**, 1559-1563 (2005).
3. RIKEN Genome Exploration Research Group and Genome Science Group (Genome Network Project Core Group) and the FANTOM consortium, *Science* **309**, 1564-1566 (2005)
4. 2005年12月11日付 *Nature Genetics* オンライン速報版