

piRNA分子による遺伝子サイレンシング機構に迫る

塩見春彦、塩見美喜子

生命現象を理解する手がかりとして、ノンコーディングRNAが注目を集めている。徳島大学ゲノム機能研究センターの塩見春彦教授と塩見美喜子准教授夫妻は、そのうちの1つ、生殖細胞に存在する「小さいRNA分子」であるpiRNAの働きを生化学的に解析し、レトロトランスポソンの増殖を抑制する仕組みやpiRNAの生合成過程などを明らかにした。卵巣での解析はScience 3月16日号に、精巣での解析はRNA 11月号に発表した。

「小さいRNA分子」の作用メカニズムを追って

Nature Digest — そもそもノンコーディングRNAとは何ですか？

塩見春彦 — ゲノムDNAが転写されてmRNAが作られ、それが翻訳されてタンパク質が作られる、というのが「セントラルドグマ」ですね。それに対して、転写はされるが、翻訳はされることなく、RNA分子として細胞中に存在するものが、いろいろ見つかっています。それがノンコーディングRNA（非コードRNA）です。このRNA分子の中には、遺伝子発現を調節するなどの重要な機能をもつものがあることがだんだんわかってきて、注目を集めているわけです。

ND — 塩見先生方は、どのようなノンコーディングRNAを研究しているのですか？

塩見春彦 — siRNA (small interfering RNA) やmiRNA (micro RNA) など、その名の通り「小さいRNA分子」（塩基数20～30程度）があります。それから比較的最近見つかったpiRNA (piwi-interacting RNA) もあります。私たちの研究は、実はRNA干渉*¹に關するAGOというタンパク質への興味からスタートしました。そして、AGOタンパク質と相互作用するRNAを探っていった結果、これら3種のRNA分子にたどりつ

いたというわけです。

ND — RNA干渉でAGOタンパク質はどんな働きをしているのですか？

塩見美喜子 — RNA干渉というのは、「小さいRNA分子」が、それと相補的な配列のmRNAにくっつき、その発現を抑制する反応（サイレンシング）です。このとき「小さいRNA分子」を「ガイド」、作用する相手のmRNAを「標的」とよんでいます。この反応で、AGOタンパク質が何をするかというと、ガイドに結合して、標的を切断したり、標的の翻訳反応を妨害したりするのです。ショウジョウバエの場合、siRNAでは、AGOタンパク質の中のAGO2という種類が切断を、miRNAではAGO1という種類が妨害を引き起こすことを、私たちが発見しました¹。

piRNA分子はどのようにして生じ、何をしているのか？

ND — 今回の論文では、どんな「小さいRNA分子」を調べたのですか？

塩見春彦 — piRNAを調べました^{2,3}。piRNAは、24～27塩基程度の大きさで生殖細胞に存在しています。少し細かな話になりますが、ハエの場合、AGOタンパク質は、2つのグループ、計5種類に分かれます。先ほどのAGO1やAGO2は体細胞に存在するグループで、もう1つは「PIWIサブファミリー」という生殖細胞に存在するグループで、AGO3、Aub、Piwiの3つのタンパク質が含まれます。この後者のグループに結合する相手はpiRNAです。

ND — 何を調べたのですか？

塩見美喜子 — Piwiグループに属するタンパク質とpiRNAが生殖細胞でどんな働きをしているかを詳しく調べました。ショウジョウバエから卵巣や精巣を取り出して、それをすりつぶし、その抽出液を解析したのです。ハエは小さい動物ですから、たいへんな手間と労力がかかりました。1回の実験に数百匹のハエの卵巣が必要になります。麻酔をかけてから、ピンセットでひとつひとつ取り出すのですが…。これまで誰も解析しなかったのは、そうした大変さがあるからかもしれませんね。とにかくその抽出液を解析したところ、とても面白いことがわかったのです。

ND — それは、どんなことですか？

塩見美喜子 — 2つの発見がありました。まず1つめは、piRNAが、反復配列に結合して、その増殖や発現を抑制することを確認したことです。卵巣においては、レトロトランスポソソ^{*2}の転写産物

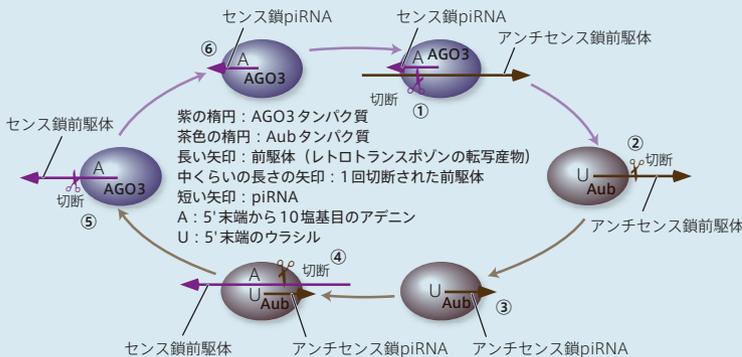
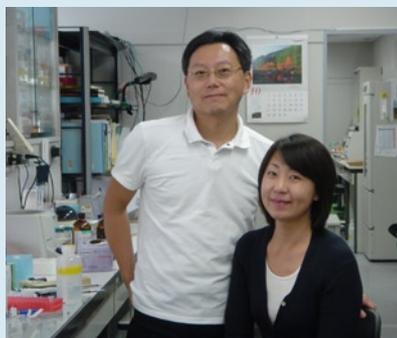


図1 piRNA分子生合成経路のモデル。

piRNAは、前駆体であるレトロトランスポソソンの転写産物から、2段階の切断を経て生じると考えられる。このときセンス鎖piRNAとアンチセンス鎖piRNAによって、切断反応に關するタンパク質が異なる。AGO3タンパク質は、アンチセンス鎖前駆体と結合し、それを切断する(①)。切断された前駆体は、Aubタンパク質に移動し、そこでさらに切断されて(②)、piRNA分子が誕生する(③)。このpiRNA分子はアンチセンス鎖である。次に、これに相補的なセンス鎖前駆体がAubに結合し、切断される(④)。この前駆体はAGO3に移動し、そこでさらに切断されて(⑤)、piRNA分子が誕生する。このpiRNA分子はセンス鎖である(⑥)。



塩見春彦（しおみ・はるひこ）／徳島大学ゲノム機能研究センター分子機能解析分野教授。医学博士。1959年、京都府生まれ。岐阜大学農学部卒業。同大学大学院農学研究科修士課程修了、京都大学大学院医学研究科博士課程修了後、1990年、米国ペンシルバニア大学研究員、1997年に同大学助教授、1999年より現職。2008年より、慶應義塾大学医学部分子生物学教室教授に就任予定。1999年、米国FRAXA Research Foundation賞、2000年、CAN Foundation賞を受賞。

ショウジョウバエを利用したRNA干渉研究により、「小さいRNA分子」が、脆弱X症候群とどのように関わっているのかを探っている。

塩見美喜子（しおみ・みきこ）／徳島大学ゲノム機能研究センター分子機能解析分野准教授。農学博士（京都大学）、医学博士（徳島大学）。1962年、愛知県生まれ。岐阜大学農学部農芸化学科卒業、京都大学農学研究科修士課程修了。1990年より1999年まで、ペンシルバニア大学にて研究。2000年、徳島大学ゲノム機能研究センター講師を経て、2001年より現職。1999年、米国FRAXA Foundation賞受賞。

2007年より、戦略的創造研究推進事業（CREST）の「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域で塩見美喜子チームを率い、「RNAサイレンシングが司る遺伝子情報制御」について研究している。

に結合し、Piwi グループタンパク質がそれを切断することを確認しました。また、精巣においては、Stellateという遺伝子の転写産物が切断されていました。この遺伝子は反復配列で成り立っています。ご存じのようにヒトゲノムには、塩基配列パターンの繰り返しである反復配列というものがたくさん含まれています。反復配列はゲノム上で増殖したり、移動したりして、病気の原因になったり、あるいは進化の原動力になったりすると考えられるので、研究が盛んに行われているのです。

ND — もう1つの発見は何ですか？

塩見美喜子 — piRNAの生合成過程に関するヒントです。AGO3タンパク質が結合するpiRNAは、標的DNAのセンス鎖の転写産物に由来することが多く、Aubはアンチセンス鎖の転写産物に由来することが多いことがわかりました。さらに、AGO3のpiRNAは、5'末端から10塩基目にA塩基をもち、Aubは5'末端にU塩基をもっていたのです。これらのことから、AGO3のpiRNAとAubのpiRNAが、互いを相互に形成し合うモデルを考えました（図1）。Aub-piRNA複合体は、母から子へと引き継がれるのだろうと私たちは推測しています。「小さいRNA分子」がどのように遺伝子発現の調節を行っているか知るためには、それがどのようにして生じるのかを知ることが、とても重要なことです。

自前の抗体と地道な研究スタイルが成功へと導いた

ND — 「小さいRNA分子」の研究を、今後はどのように展開されますか？

塩見美喜子 — 「RNA干渉機構の研究はもう済んだ」と思っている人がいるかもしれませんが、今回の論文でもおわかりのように、「小さいRNA分子」が生体の中で果たしている役割というのは、まだまだわからないことだらけです。さまざまな「小さいRNA分子」とAGOタンパク質が行う相互作用の詳細を明らかにすることで、生命現象の理解が進むだけでなく、医療や科学に応用のできる新たな技術の開発にもつながるでしょう。

塩見春彦 — 私たちが、RNA干渉研究をスタートするきっかけになったのは、そもそも、脆弱X症候群^{*3}の原因遺伝子から作られるタンパク質が、RNA干渉に必須のAGOタンパク質と相互作用するとわかったからです。生体内の「小さいRNA分子」は、遺伝子の転写をオンオフしたり、翻訳を微調整したりしているのではないのでしょうか。これらの分子が、遺伝子発現をど

のように調節し、健康や知性などの性質に関与しているのか、最終的にはそれを知りたいと思っています。

ND — 研究でいちばん大切なことは何だと思われますか？

塩見美喜子 — 私たちが大切にしているのは、自前の抗体を作るということです。「まず、よい抗体を作る」という実験手法の大切さを、私たちは米国時代の師匠から教わりました。よい抗体を作ることができれば、精度の高い実験を行うことができるようになります。そうすれば、アミノ酸数個しか変わらない配列でも区別することができるようになります。自前だから、抗体をいくらでも使え、何度でも繰り返し実験ができます。

塩見春彦 — ゲノム配列を解析してノンコーディングRNAについて網羅的に調べる研究が始まりつつありますが、見つかったRNAがどんな働きをしているのかを詳しく知るためには、私たちのやっているような生化学的解析が必要になります。生化学的実験といのは、細胞をすりつぶして行うなど、とても地道な方法で、これを行うラボは、世界中を見渡しても、決して多くはありませんが、けれども私たちは、今後もそうしていくつもりです。

ND — 研究員に期待されることは？

塩見春彦 — 私たちのやっているのは、泥臭い、地道な生化学的解析です。実験を成功させるコツは、信念をもつことと、アグレッシブであることですね。「できる」と信じること、あるいは、「欲しい」と強く思うこと。信念だけではだめですが、信念がなければ始まらないと思ってください。

ND — ありがとうございます。 ■

聞き手は藤川良子（サイエンスエディター）。

*1 RNA干渉

小さいRNA分子が遺伝子の発現を抑制する反応。遺伝子を人工的に操作する技術として発展したが、生体内にもともと備わっている働きでもある。

*2 レトロトランスポゾン

ゲノム上の位置を移動することができるDNA配列の一種類。転写されて生じたmRNA分子が、逆転写酵素によって再びDNA分子に戻り、ゲノムの別な部分に組み込まれる。そのため、ゲノム上のあちこちに存在する反復配列となっている。組み込まれるときに、別の遺伝子を壊したりするなど、有害なことも多い。

*3 脆弱X症候群

遺伝性の精神遅滞症で、高頻度に見られる。原因遺伝子がX染色体に発見されている。ゲノム上で、CGGやCCGといったDNAの反復配列が膨大に増えて、その遺伝子の働きが阻害され、病気が起こる。

1. Okamura K., A. Ishizuka, H. Siomi H, M.C. Siomi, *Genes Dev.* **18**(14), 1655-1666 (2004)
2. Lalith S., K. Saito, K.M. Nishida, K. Miyoshi, Y. Kawamura, T. Nagami, H. Siomi and M.C. Siomi, *Science* **315**, 1587-1590 (2007)
3. Nishida K.M., K. Saito, T. Mori, Y. Kawamura, T. Nagami-Okada, S. Inagaki, H. Siomi and M.C. Siomi, *RNA* **13**, 1911-1922 (2007)