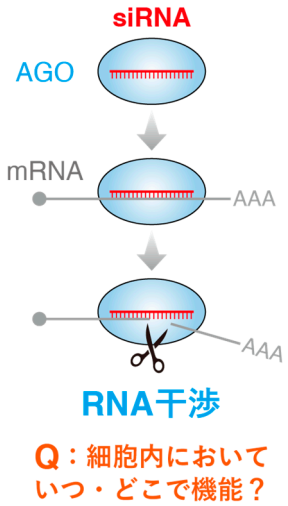
108 RNA干渉を細胞内において1分子感度で捉える新規手法

東京大学 定量生命科学研究所 RNA機能研究分野　　小林　穂高

Small interfering RNA（siRNA）は、わずか21塩基ほどの非常に小さなRNAであるが、その小ささとは裏腹に、相補的配列を持つ遺伝子の発現を強力に抑制する。この現象は「RNA 干渉」と呼ばれ、生命科学においては興味遺伝子の機能を調べるための解析ツールとして世界中で使用されており、基礎医学においてもsiRNA自体を次世代型の低分子医薬として用いた治験が複数実施されるなど、その重要性に疑う余地はない（2006 年、ノーベル生理学・医学賞）。その重要性ゆえに、これまで siRNA について国内外で精力的な先行研究が進められてきた。こうした先行研究により、siRNAは以下の過程を経てRNA干渉を実行することが明らかになっている（図）。(1) siRNAがArgonaute（AGO）蛋白質に取り込まれ、RNP 複合体が形成される。(2) 形成されたRNP 複合体がsiRNAを介して相補的配列を持つ mRNA を認識する。(3) RNP 複合体中の AGO が mRNA を切断し、これにより遺伝子発現が強力に抑制される。しかしながら、このようにsiRNAの機能メカニズムについては理解が進んでいる一方、実はsiRNAには未だ理解が進んでいない、ある重要な側面が存在する。それは、siRNA は「細胞内において、一体いつ・どこで機能するのか」といった時空間的な側面である。と言うのも、siRNAによるRNA干渉は、これまで主に生化学的な手法によって解析されてきた（例えば、細胞をすり潰したライセートを用いて、試験管内で解析する手法など）。そのため、siRNA の機能メカニズムについては解析可能であるものの、それが実際に細胞内において、一体いつ・どこで機能するのかという側面については踏み込めなかったのである。そこで本研究では、こうしたsiRNAの時空間的な側面に迫るべく、siRNA による RNA 干渉（すなわち、mRNA の切断）を細胞内 1 分子イメージングできる新しい手法の確立を目指した。その結果、mRNA の切断を細胞内において 1 分子 mRNA 感度で検出できる新規レポーターmRNAを構築することに成功し、これにより mRNA が転写されてから切断されるまでの経過をタイムコース解析することに成功した（未発表データにつき具体的な内容は割愛：Li et al., in preparation）。

【発表】

1）　2024 年 7 月　第 76 回 日本細胞生物学会大会、招待講演
2）　2024 年 8 月　2024 年度 徳島大学先端酵素学研究所シンポジウム、招待講演
3）　2024 年 9 月　International Symposium on Multifaceted Protein Dynamics、口頭発表
4）　2024 年 10 月　Karolinska Institutet Guest Seminar、招待講演



siRNA による RNA 干渉