

卵子における不思議な遺伝子発現制御と小分子 RNA

九州大学生体防御医学研究所エビケツム学分野
山本 耕裕, 佐々木裕之

はじめに

ヒトのゲノム DNA には30億以上の塩基対がある。しかし、これほどたくさんの遺伝情報があるにも関わらず、タンパク質のアミノ酸配列を直接決める塩基対は2%未満にすぎない。それ以外の塩基配列は、ごくわずかな調節領域を除けば機能が不明であり、一見すると無駄とも思われる“ジャンク（がらくた）DNA”とされてきた。“偽遺伝子”はこのジャンク DNA の代表で、もともと遺伝子として働いていたが、進化の過程でタンパク質を作る機能を失ってしまった遺伝子の残骸である。ところが最近、当研究室を含む複数の研究チームから、マウスの卵子形成過程において、偽遺伝子由来の小分子 RNA による遺伝子制御機構が存在することが示された [1, 2]。この不思議な遺伝子発現制御について紹介する。

卵子における内在性 siRNA の発見

RNA 干渉は植物から動物に至る多くの真核生物に共通して存在し、小分子 RNA を介した塩基配列特異的な mRNA の分解あるいは翻訳抑制により遺伝子発現を制御する現象である。このような機能をもつ小分子 RNA には micro RNA (miRNA), small interfering RNA (siRNA), piwi interacting RNA (piRNA) などのクラスがある。これらのうち、siRNA はこれまで植物・酵母・線虫で確認されていたが [3, 4], 哺乳類にはみつかっていなかった。また、哺乳類では siRNA の前駆体となる2本鎖 RNA を合成する酵素 RNA dependent RNA polymerase (RdRP) がみつからないことから、内在性 siRNA の存在そのものに否定的な意見も強かった。一方で、マウス卵子に2本鎖 RNA をインジェクションすると、標的遺伝子の発現を抑制できること [5, 6] から、卵子において2本鎖 RNA 由来の siRNA が働きうると考えられた。そこで、マウス卵母細胞を大量に採取し、そこから得た小分子 RNA を次世代シーケンサーにより網羅的に解析した。その結果、100,000を超える小分子 RNA の配列が決定され、哺乳類での内在性 siRNA の存在が明らかになった [1, 2]。

RdRP を介さない内在性 siRNA の生合成経路

一般に内在性 siRNA の生合成は、まず RdRP の作用による1本鎖 RNA から2本鎖 RNA の合成、次に2本鎖 RNA の Dicer による切断というステップを踏む。しかし先述した通り、哺乳類には RdRP が存在しない（ごく最近、ヒトの細胞で RdRP 活性を示す分子が報告されたが、非常に特殊な RNA を基質とするらしい）。では、マウス卵母細胞はどのようにして2本鎖 RNA、ひいては内在性 siRNA を作るのだろうか？ 発見された内在性 siRNA の特徴を詳細に解析したところ、siRNA の生成機構には3つあることがわかった。1つ目は転写された RNA がそれ自身で2本鎖のステム構造を作るもの (図 a), 2つ目は全く別の領域から転写された相補的な RNA が2本鎖を形成し siRNA をつくるもの (図 b), 3つ目は部分的に重なった両方向転写により2本鎖 RNA をつくるもの (図 c) であった。このように哺乳類の卵子では、RdRP を用いずとも、自然に形成される2本鎖 RNA から内在性 siRNA を生成することが明らかになった。

偽遺伝子由来の siRNA による遺伝子制御

内在性 siRNA の由来を調べた結果、さらに驚くべきことが分かった。すなわち、多くの siRNA は偽遺伝子から生成されていた。いくつかの例では、siRNA の前駆体となる2本鎖 RNA は偽遺伝子から転写されるアンチセンス RNA と相同性のあるタンパクをコードする mRNA とで形成されていた。さらに Dicer ノックアウトの結果から、siRNA が実際に相同な遺伝子の発現を抑制していることも明らかになった (図)。このように、これまで“がらくた”だと考えられていた偽遺伝子も、卵子では重要な役割をもつことが明らかになった。

おわりに

哺乳類の生殖細胞で特異的に発現する小分子 RNA には、siRNA の他に piRNA がある。piRNA はレトロトランスポソンの抑制に関わることが明らかになっているが [7], さまざまな遺伝子に対する配列を有する piRNA

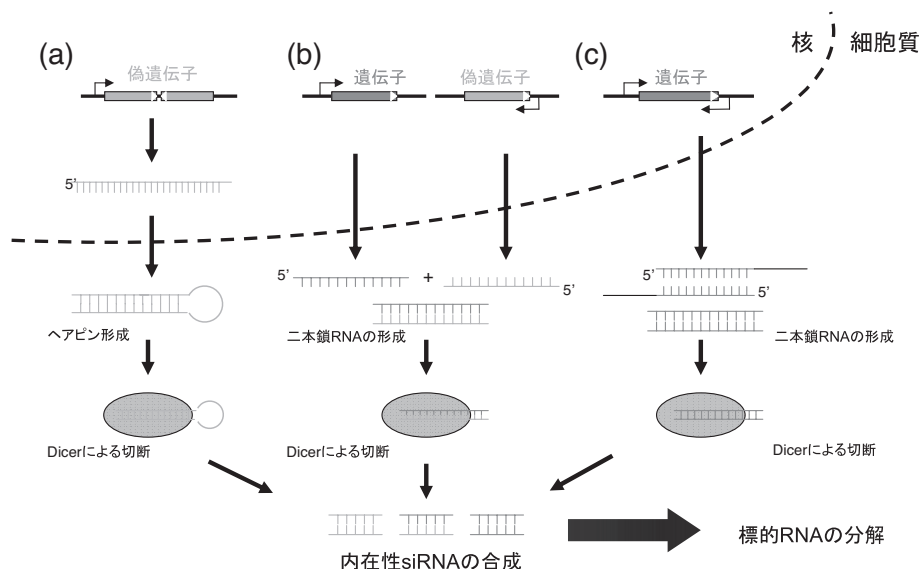


図 マウスの卵母細胞における内在性 siRNA の生合成経路と遺伝子発現制御

(a) 転写された RNA がそれ自身で 2 本鎖のステム構造をつくる経路, (b) 全く別の領域から転写された RNA が 2 本鎖をつくる経路, (c) 部分的に重なった両方向転写により 2 本鎖 RNA をつくる経路. それぞれの経路によって生じた 2 本鎖 RNA が Dicer により切断され, siRNA が生成される. siRNA は標的 RNA の分解に働く. 偽遺伝子は (a) と (b) の経路に関わる.

も多い. そのため, もしかすると内在性 siRNA と同様に遺伝子発現制御を行っているかも知れない. 今後, これら小分子 RNA の新たな役割が発見されることを期待する.

謝辞

本稿の執筆を薦めていただいた国立成育医療研究センター研究所 緒方 勤先生に深謝いたします.

引用文献

1. Tam OH, Aravin AA, Stein P, Girard A, Murchison EP, Cheloufi S, Hodges E, Anger M, Sachidanandam R, Schultz RM, Hannon GJ (2008) Pseudogene-derived small interfering RNAs regulate gene expression in mouse oocytes. *Nature* 453, 534-538.
2. Watanabe T, Totoki Y, Toyoda A, Kaneda M, Kuramochi-Miyagawa S, Obata Y, Chiba H, Kohara Y, Kono T, Nakano T, Surani M.A, Sakaki Y, Sasaki H (2008) Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes. *Nature* 453, 539-543.
3. Ruby JG, Jan C, Player C, Axtell MJ, Lee W, Nusbaum C, Ge H, Bartel DP (2006) Large-scale sequencing reveals 21U-RNAs and additional microRNAs and endogenous siRNAs in *C. elegans*. *Cell* 127, 1193-1207.
4. Vaucheret H (2006) Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations. *Genes Dev* 20, 759-771.
5. Svoboda P, Stein P, Hayashi H, Schultz RM (2000) Selective reduction of dormant maternal mRNAs in mouse oocytes by RNA interference. *Development* 127, 4147-4156.
6. Yan W, Ma L, Stein P, Pangas SA, Burns KH, Bai Y, Schultz RM, Matzuk MM (2005) Mice deficient in oocyte-specific oligoadenylate synthetase-like protein OAS1D display reduced fertility. *Mol Cell Biol* 25, 4615-4624.
7. Kuramochi-Miyagawa S, Watanabe T, Gotoh K, Totoki Y, Toyoda A, Ikawa M, Asada N, Kojima K, Yamaguchi Y, Ijiri TW, Hata K, Li E, Matsuda Y, Kimura T, Okabe M, Sakaki Y, Sasaki H, Nakano T (2008) DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes. *Genes Dev* 22, 908-917.