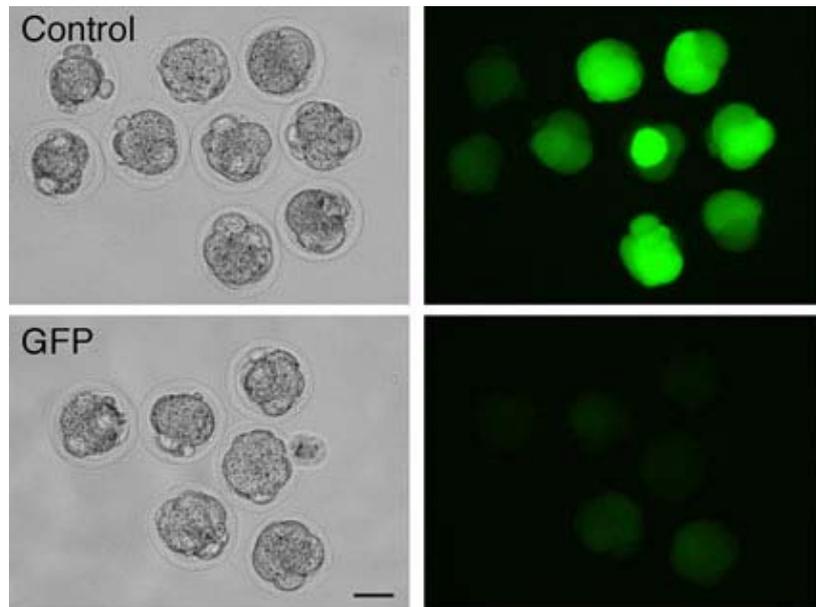


哺乳類の受精と初期発生における RNA 干渉

平成 18 年 12 月 18 日

RNA 干渉(RNAi、RNA interference)とは、RNAによって配列特異的に mRNA が分解あるいはタンパク質への翻訳が阻害され、最終的に遺伝子発現が抑制される現象である。近年ではこの現象を利用して、短い2本鎖 RNA (siRNA、small interference RNA) を細胞や胚に導入し、任意の遺伝子をノックダウンする実験手法も発達してきた。また最近同定された micro-RNA (miRNA) は、遺伝子発現を調節する機能をもった細胞性の RNA で、細胞の増殖や分化、発生現象に重要な役割を果たすと考えられている。

理研 CDB の天内真奈美 (哺乳類胚発生研究チーム、Tony Perry チームリーダー) らは、哺乳類の RNA 干渉に関する2つの論文を発表した。マウス成熟卵への siRNA の注入が遺伝子発現抑制に有効であることや、精子由来の miRNA が初期発生に寄与していないことなどを明らかにしている。これらの論文は12月1日発行の Biology of Reproduction 誌に掲載された (8月30日付けでオンライン先行発表済み)。



マウス桑実胚の位相差顕微鏡像 (左) および蛍光顕微鏡像 (右)。核除去した成熟卵子に GFP を発現する卵丘細胞核を移植した。核移植の際に GFP に対する siRNA を共にインジェクションすると、コントロール (上) と比較して GFP の顕著な発現抑制が見られた (下)。

一つ目の論文では、siRNA と精子を共にマウス成熟卵へインジェクションする方法を用いて、マウスの初期胚で特定の遺伝子発現を抑制する実験を報告している。siRNA による遺伝子ノックダウンは哺乳類を含む多くの生物種で効果を示し、分子生物学研究に欠かせないツールとなっ

ている。しかし、受精可能で成熟したマウス卵子における効果はこれまで詳しく検証されてこなかった。彼らは今回、siRNA のマウス成熟卵へのインジェクションによって複数のターゲット遺伝子を同時に抑制できることや、siRNA を精子と共にインジェクションした場合にも発現抑制が起こり、その効果は胚盤胞期まで持続することなどを明らかにした。また、核移植の際にドナー核と一緒に siRNA をインジェクションした場合も発現抑制は起こり、その効果は内在性のターゲットにも外来遺伝子にも有効であることがわかった。

そこで彼らは、Cdc20、Emi1、Emi2 といった細胞周期調節因子をターゲットに siRNA による解析を進めた。Emi2 や Emi1 は受精前の卵が分裂しないように停止させておくのに必要とされる因子であるが、これらに対する siRNA を精子と一緒にインジェクションしても発生は正常に開始する。これに対し、Cdc20 を同じ方法で発現抑制すると、第 1 卵割が正常に起こらないことから Cdc20 が卵割に重要であることが示された。

Perry チームリーダーは、「ターゲット遺伝子によって siRNA の効果は異なるが、今回の実験で示したように哺乳類の初期発生の細胞周期調節因子をターゲットとした研究では、本法はその簡便性と特異性から効果的で汎用性の高い手法になり得ると思う」と話す。

もう一つの論文では、精子由来の miRNA が受精とそれに続く初期発身に顕著な役割を持たないことを示した。第 2 減数分裂中期 (mII) で一時停止した哺乳類の卵子は、受精によって細胞周期を再開し、卵子としての形質を失うと同時に胚としての特徴を獲得していく。発生の開始に伴うこのような変化は迅速におこる。「そこで私たちは、精子によって持ち込まれた miRNA が、母性 mRNA の分解、または翻訳抑制に働いているのではないかと考えました」と Perry チームリーダーは話す。彼らはこの仮説を検証するために、精子頭部で発現する RNA を解析した。その結果、卵子に進入する精子頭部には miRNA が存在し、それに対応する mRNA が卵子内に発現していることが明らかとなった。しかし、精子頭部の miRNA は、卵子内の miRNA と比較して微量であり、受精によって大きな量的変化をもたらすものではなかった。また、精子由来の miRNA を阻害しても発生は正常に開始することから、その機能はあったとしても初期発身に寄与するものではないことが示唆された。

またこの研究では、核移植による卵子内の miRNA プロファイルへの影響も調べた。その結果、核除去の際には卵子内の miRNA 量に変化が見られないのに対し、ドナー核の移植に伴って一部の miRNA 量が増加することが明らかになった。「このことは核移植後の胚発生率が極めて低いことと関連している可能性を示している」と Perry チームリーダーはコメントする。