

簡単お手軽 RNAi のひみつ : SID-1

モデル生物である線虫 *Caenorhabditis elegans* では非常に簡単に RNAi を起こすことができる。*C.elegans* では餌となる大腸菌で dsRNA を発現させても、培地に dsRNA をたくさん混ぜることで RNAi を引き起こすことができる。しかもその効果が子孫にまで持続するという都合の良い特徴まで持っている。最初に dsRNA が入った細胞以外でも RNAi が観察される現象は systemic RNAi と呼ばれる。ところが、他の生物ではそうはいかない。何故 *C.elegans* ではこのような現象が起こるのだろうか。

systemic RNAi は RNAi の情報を細胞間で伝え合っているためと考えられると理解できる。Winston らは RNAi の細胞間伝達を解析するためにトランスジェニック線虫を作成した (Winston et al. 2002)。HC57 と名付けられたこの線虫は咽頭筋細胞で *myo-2* プロモータによって GFP を発現し、また、体壁細胞でも別のプロモータ *myo-3* によって GFP を発現する。これに第 3 のトランスジーンとして *myo-2* の下流に GFP の dsRNA をつなげたものを導入する。dsRNA は咽頭筋細胞で発現し、GFP の発現を抑制する。のみならず RNAi は全身に広がり体壁細胞でも GFP の発現は抑制される。野生型では実際にそうなるが、一方、咽頭筋細胞で RNAi が起こり体壁細胞で起こらない個体では、伝播性の RNAi が起こっていないと考えられる。そのような個体をスクリーニングしたところ、106 個体が取れ、その変異は 3 座位に集まった。これらの座位は、*sid* (systemic RNA interference defective)-1,-2,-3 と命名された。*sid-1* で更に詳細に解析したところ、この変異体は体壁細胞で RNAi が起こらない変異ではないことが確認された。また、大腸菌で dsRNA を発現させ摂取させても RNAi は起こらなかった。また子孫への伝播も認められなかった。

sid-1 遺伝子は 776 残基のタンパク質をコードする C04F5.1 であることがわかった。*sid-1* 遺伝子にコードされたタンパク質 SID-1 は 11 回の膜貫通領域を持つ膜タンパク質であることが予想された。SID-1 が RNAi を起こした細胞が情報を他の細胞に伝えるのに必要なのかそれとも逆に RNAi を起こしていない細胞が情報を取り込むのに必要なのかを調べるために、著者らはモザイク線虫を作成した。この線虫では、GFP を発現している細胞は *sid-1* 変異体で、GFP と DsRed を両方発現している細胞では *sid-1* 変異は DsRed と一緒に導入した野生型 *sid-1* によってレスキューされている。これに GFP の dsRNA を摂取させたところ、DsRed が発現している細胞では GFP が発現しなくなるのに対して、GFP だけを発現する細胞も見られた。すなわち、SID-1 は発現する細胞自身が systemic RNAi を起こすのに必要である。また、*sid-1* は胚発生の後期から成体まで恒常的に発現しており、とりわけ外界と接する細胞で発現量が多いことがわかった。すな

わち摂食された dsRNA を腸壁から取り込む際に SID-1 が働いている可能性が考えられる。

続報では、SID-1 の性質が詳細に解析されている (Feinberg and Hunter 2003)。まず、SID-1 に β ガラクトシダーゼを融合したタンパク質の解析により、膜と SID-1 の位置関係が明らかとなった。N 末側は細胞外にあり、C 末側は細胞内である。続いてキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の培養細胞 S2 に *C.elegans* の *sid-1* 遺伝子をプラスミドの形で導入した。キイロショウジョウバエは *sid-1* のホモログを持っていない。*sid-1* の正常配列のプラスミドと同時にルシフェラーゼのプラスミドも細胞にトランスフェクションし、500bp のルシフェラーゼの dsRNA を培地中に加えると RNAi が観察され、その程度は dsRNA の量に依存した。一方、*sid-1* の変異体のプラスミドでは 10^5 以上高い濃度の dsRNA でないと正常 *sid-1* に相当する RNAi が観察されなかった。培地に加える dsRNA の長さを変えて RNAi の効果を調べたところ、長い dsRNA ほど SID-1 の存在によって RNAi の効果が高くなった。この長さによる効果の違いはインジェクションでは観察されなかったことから、SID-1 による dsRNA の取り込み効率の違いによることが予想された。次いで dsRNA に ^{32}P でラベルする実験で SID-1 が発現していると効率よく dsRNA を取り込むことが示された。そして、ATP の量を変えたり、温度を変えたりする実験で、この取り込みが受動的な dsRNA の取り込みであることが明らかとなった。以上から、SID-1 は細胞表面で長い dsRNA を効率よく濃度勾配に従って細胞中に取り込むことで systemic RNAi を引き起こしていると考えられる。

sid-1 はヒトやミツバチでもホモログが存在しており、*C.elegans* と同様に systemic RNAi が観察されているコクヌストモドキ *Tribolium castaneum* にもあるのは興味深い。*C.elegans* と *T.castaneum* の systemic RNAi の機構を比較解析するのも面白いだろう。

Winston WM, Molodowitch C, Hunter CP.

Systemic RNAi in *C. elegans* requires the putative transmembrane protein SID-1.

Science. 2002 Mar 29;295(5564):2456-2459.

Feinberg EH, Hunter CP.

Transport of dsRNA into cells by the transmembrane protein SID-1.

Science. 2003 Sep 12;301(5639):1545-1547.

2006/09/28

小島 健司 著
禁 無断複写転載