



送付枚数 6枚 (本書含む)

ゲノム編集技術¹⁾とは一線を画す 新たな遺伝子改変技術²⁾を開発 ～Nature 姉妹誌『Scientific Reports』に掲載～

福岡大学理学部化学科の福田将虎助教の研究グループは、細胞内で標的 RNA に遺伝子変異を導入する「編集ガイド RNA」と呼ばれる機能性 RNA を開発しました。近年、ゲノム編集技術をはじめ DNA を標的とした遺伝子改変技術が注目されていますが、同じ遺伝情報を持つ RNA の変異導入技術は未だ一般的な方法は確立されていません。本研究成果は、標的細胞の遺伝情報を永続的に変換するゲノム編集技術とは一線を画す、RNA 変異導入技術の基盤的方法論を示すものであり、基礎研究から疾患の治療薬開発まで幅広い分野での応用が期待されます。

この成果は2月2日英国科学誌ネイチャー (Nature) の姉妹誌である『Scientific Reports』電子版 (URL: <http://www.nature.com/articles/srep41478>) に掲載されました。

I. 疾患の原因はタンパク質の異常

生物の生命現象を担う大部分の分子はタンパク質であることが知られています。具体的には、タンパク質は、生体内の化学反応、構造形成、情報伝達、運動、栄養の貯蔵・輸送、生体防御等の実に様々な役割を担っています。従って、あるタンパク質の発現量変化や機能の異常が、疾患の分子レベルでの原因であることは明らかで、これらタンパク質の異常を矯正することが可能な技術は、あらゆる疾患、特にがんなどの治療が困難な難治性疾患の治療技術の基盤として極めて重要と考えられます (図1)。なお、生体内で作られるタンパク質は、生物の設計図であるゲノム DNA にその情報が記

されており、生物のセントラルドグマ³⁾

(図2) に従って合成されます (DNA 情報を基にメッセンジャー RNA (mRNA) に転写され、mRNA の情報に従ってタンパク質が翻訳されます)。

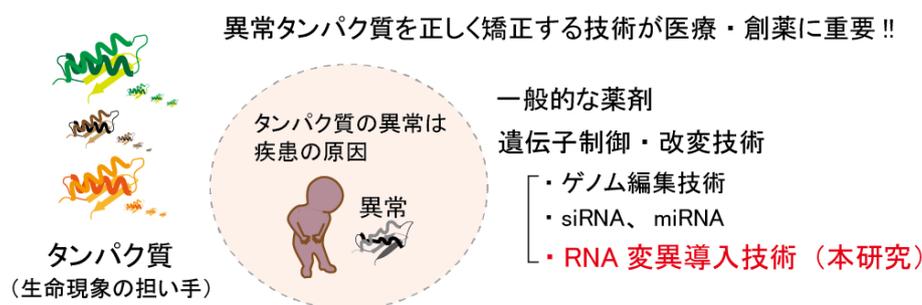


図1 疾患の原因はタンパク質の異常

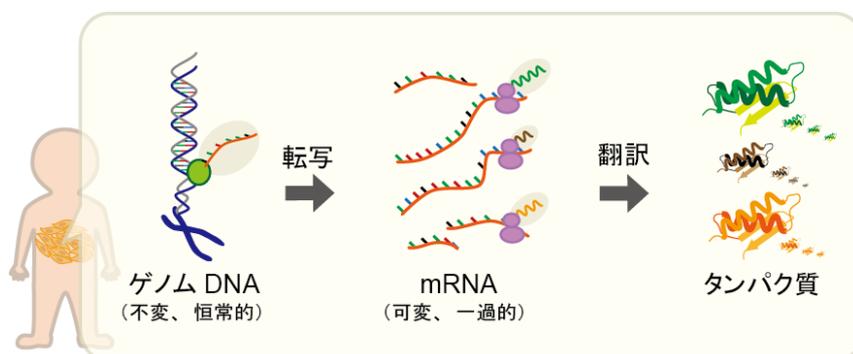


図2 セントラルドグマ

II. 疾患治療の現状と進化

これまで開発された数多くの一般的な薬剤は、タンパク質に直接相互作用して薬効を出すことを原理としています。しかし、標的タンパク質に的確な相互作用を示す化合物を合成するのは容易ではなく、既存の薬剤では治療が困難な難治性疾患および致死性疾患は少なくありません。上述したようにタンパク質は、セントラルドグマに従って合成されるので細胞内のゲノム DNA 情報を改変すれば、標的タンパク質の量や機能を調節することができます。これは、一般的に遺伝子改変技術と呼ばれます。近年、細胞内の DNA を改変するゲノム編集技術や、mRNA を分解・抑制する small interference RNA (siRNA)⁴⁾ や microRNA (miRNA)⁵⁾ など、遺伝子レベルでの制御技術が疾患に対する薬剤及び治療法として応用されてきています。これら技術の特徴を表 1 にまとめています。

III. ゲノム編集・siRNA・miRNA の問題点

近年、ゲノム編集技術が目覚ましい発展を遂げ、高効率かつ特異的に DNA 情報を改変できるようになり、難治性疾患に対する治療法として期待されています。ゲノム改変により遺伝子組換えを施した細胞は、その変異を持続的に残すことができる一方で、標的以外の DNA が間違っただけで改変された場合 (オフターゲット⁶⁾)、その影響によりがんを始め異常が発生する懸念のあることが報告されています。また、ゲノム改変を医療に応用するには倫理的問題も含め、多くの解決すべき課題が残っているのも現状です。

また、DNA や RNA の核酸分子を基盤とした核酸医薬品の開発研究が勢力的に行われています。中でも、siRNA や miRNA などの短い長さの RNA を用いて、任意の細胞内標的タンパク質の発現量を減少させる方法は、標的 mRNA と相補的な配列を設計するだけでタンパク質発現の抑制が



可能であるという特徴から、核酸創薬における主要な基盤技術として用いられています。しかしながら、細胞内タンパク質は複数の機能を持っていることが多いため、タンパク質発現抑制に特化した従来技術では、タンパク質が持つ全ての機能を抑制してしまうことから、目的とする効果が得られない場合があります。もちろん、タンパク質の機能を亢進することはできません。

IV. RNA 編集機構

先に述べたように、基本的には DNA から RNA を介してタンパク質が作られるのですが、ヒトを含めほとんどの高等生物では、全てのタンパク質が DNA 情報に忠実に作られる訳ではなく、RNA レベルでその情報を改変し、DNA 情報とは異なったタンパク質を合成することで、特定の生命現象をコントロールしていることが明らかになっています。その一つが RNA 編集機構です。私達が着目した A-to-I RNA 編集は、二本鎖 RNA 特異的アデノシンデアミナーゼ (Adenosine Deaminase Acting on RNA: ADAR) ⁷⁾ と呼ばれる編集酵素により、RNA 上の特定のアデノシンがイノシンに変換される機構です。mRNA 上に生じたイノシンは、タンパク質に翻訳される際にグアノシンとして認識されることから、RNA 編集により、合成されるタンパク質は DNA 情報とは異なるものになります。従って、この RNA 編集機構は、RNA レベルでの遺伝情報変換機構であると言えます。また、細胞内ではゲノム DNA も mRNA もタンパク質にとってはその情報が記載されている分子ですが、DNA は不変的且つ恒常的であるのに対し、mRNA はその情報が変化し、一定時間で分解される一過的な情報分子であるという違いがあります。つまり、RNA 改変技術は、従来の DNA 改変技術に付随するオフターゲットのリスクの少ない新たなタンパク質機能制御技術になると考えられます。

A-to-I RNA 編集機構

RNA レベルの情報変換機構

編集酵素 ADAR により、特定のアデノシン(A)がイノシン(I)に置換される。I はグアノシン(G)として翻訳されるため、編集後の mRNA からは DNA 情報とは異なるタンパク質が作られる

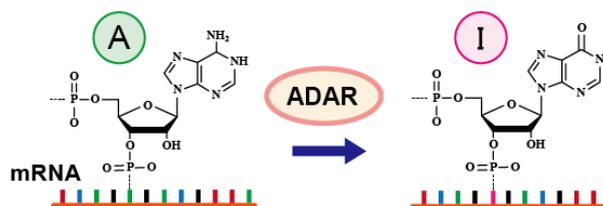


図3 A-to-I RNA 編集機構



V. RNA 編集技術 (本技術)

今回私達は、「RNA 編集機構を利用した遺伝子変異導入法」という、従来の技術とは異なる原理、つまり RNA 編集を人為的に標的 RNA に誘導することを原理とする部位特異的 RNA 変異導入で、標的タンパク質機能を調節するという新たな遺伝子制御技術の基盤的方法論を開発することにしました (表 1)。本研究ではこれを達成するため、ヒト ADAR2 (hADAR2) を標的 RNA に誘導し、特定のアデノシンをイノシンへ変換する機能性 RNA を編集ガイド RNA として開発しました (図 4)。本ガイド RNA は約 70 ヌクレオチド⁸⁾ と比較的短鎖であり、また、標的とする RNA を単純な相補鎖で設定できるため、任意の RNA の遺伝子変異に適用することが可能です。さらに、hADAR2 を発現させたヒト培養細胞内に編集ガイド RNA を導入することで、RNA 変異導入により標的タンパク質の機能発現を制御できることを実証しました。以上の結果より、RNA 編集機構を利用した部位特異的 RNA 変異導入法の基盤的技術を確立しました。つまり、今回私達が開発した編集ガイド RNA による RNA 変異導入技術は、現在すでに実用化が進んでいるゲノム編集技術や siRNA および miRNA の補完的役割を担う重要な技術であり、今後の標的タンパク質機能制御における基盤的技術になると考えています (表 1)。さらに、編集ガイド RNA そのものも核酸製剤に成り得るポテンシャルがおおいにあり、今後は積極的に応用研究を展開していく予定です。今回報告する基盤技術は、タンパク質機能の制御が可能である遺伝子改変技術として、生理的 RNA 編集の機能解明研究から難治性疾患の治療法開発などに大いに貢献できるものと期待されます。

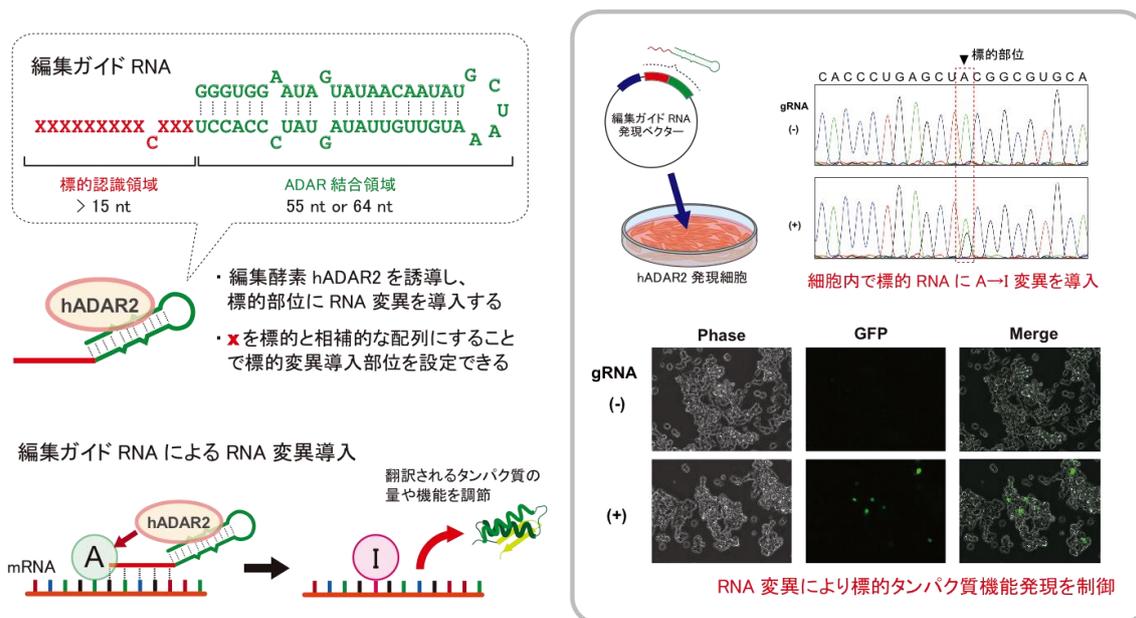


図 4 RNA 編集技術 (本技術)



表1 遺伝子改変・制御技術の特徴

	ゲノム編集技術	siRNA, miRNA	RNA 変異導入技術 (本技術)
標的	DNA	RNA	RNA
効果	恒常的	一過的	一過的
オフターゲット のリスク	大	小	小
タンパク質制御	発現量調節 機能改変	発現抑制のみ	発現量調節 機能改変
使用物質	RNA、タンパク質	短鎖 RNA	編集ガイド RNA
標的設定	相補鎖	相補鎖	相補鎖
用途	DNA 遺伝子治療	核酸製剤	開発中 (核酸治療薬)

取材などのお問い合わせは下記へご連絡ください。

【お問い合わせ先】

福岡大学 理学部化学科 福田 将虎 助教
電話：092-871-6631(代) (内線：6227)



用語解説

- 1) ゲノム編集技術：部位特異的な DNA 分解酵素を利用して思い通りにゲノム DNA の遺伝情報を改変する技術。
- 2) 遺伝子改変技術：生物の設計図であるゲノム DNA または、その情報が写し取られた RNA など、遺伝情報を司る分子を人為的に改変する技術。
- 3) セントラルドグマ：タンパク質を合成する情報が「DNA→(転写)→mRNA→(翻訳)→タンパク質」の順に伝達されるという分子生物学の概念。
- 4) small interference RNA (siRNA)：21-23 塩基対から成る低分子二本鎖 RNA で、RNA 干渉という機構により、相補的な配列 (RNA の構成成分であるアデノシン (A)、ウリジン (U)、グアノシン (G)、シトシン (C) は、それぞれ A-U と G-C の組で塩基対を形成する。つまり、A と U、G と C は相補的である。) を持つ mRNA を分解に導く。
- 5) microRNA (miRNA)：遺伝子発現の調節に関わる比較的短い RNA。mRNA と相補鎖を形成することでタンパク質翻訳を阻害する。
- 6) オフターゲット：標的ではない部位の遺伝情報を改変してしまうこと。
- 7) 二本鎖 RNA 特異的アデノシンデアミナーゼ (ADAR)：RNA の特定のアデノシン (A) を加水的脱アミノ化反応によりイノシン (I) に変換する、RNA 編集機構の担い手であるタンパク質酵素。ヒトには ADAR1、ADAR2、ADAR3 の 3 種類が存在し、主に神経細胞に発現している。ADAR を欠損させたマウスは発生・分化の段階で死に至る。また、ADAR の編集活性は生物の恒常性維持には必須であると考えられており、RNA 編集異常と疾患の関連も指摘されている。
- 8) ヌクレオチド (nt)：核酸の構成成分であり、長さを表す時の単位として用いられる。