080727

RNAによる性と生殖の制御

理学研究科生物学専攻

井上　邦夫

従来のセントラルドグマにおけるRNAの役割

	転写		翻訳	
遺伝子	→	mRNA	→	蛋白質
			rRNA tRNA	

・遺伝子は蛋白質を作るための情報を担っている
・RNAは遺伝情報が蛋白質へと発現される過程の**「仲介役」**

生物の多様性や複雑さは
遺伝子の数や種類によって
決まるのか？

蛋白質をコードする遺伝子の数は生物種間で大差ない

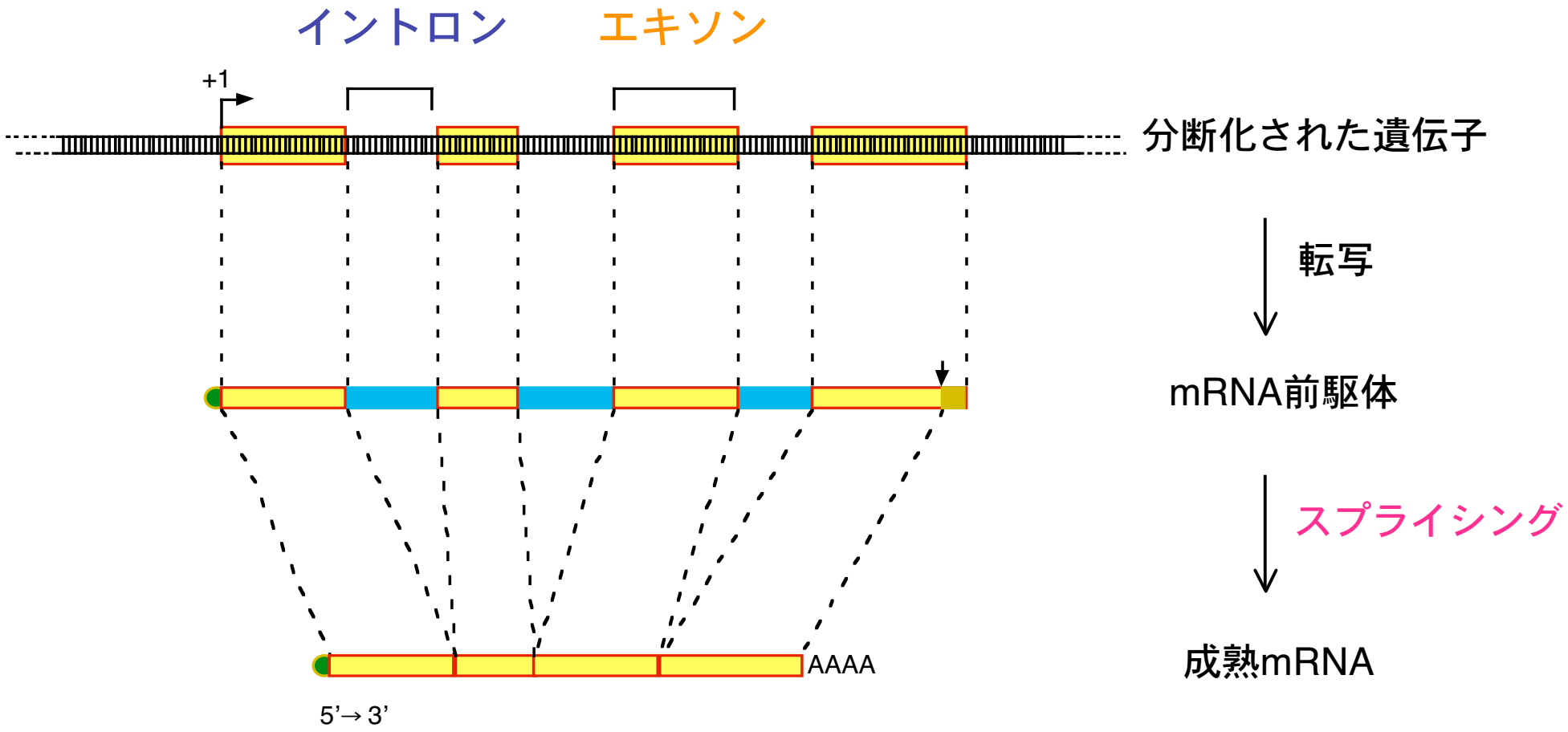
⇩

RNAレベルで形質発現の多様性・複雑さを生む戦略

☆ 蛋白質をコードするmRNAの選択的スプライシング

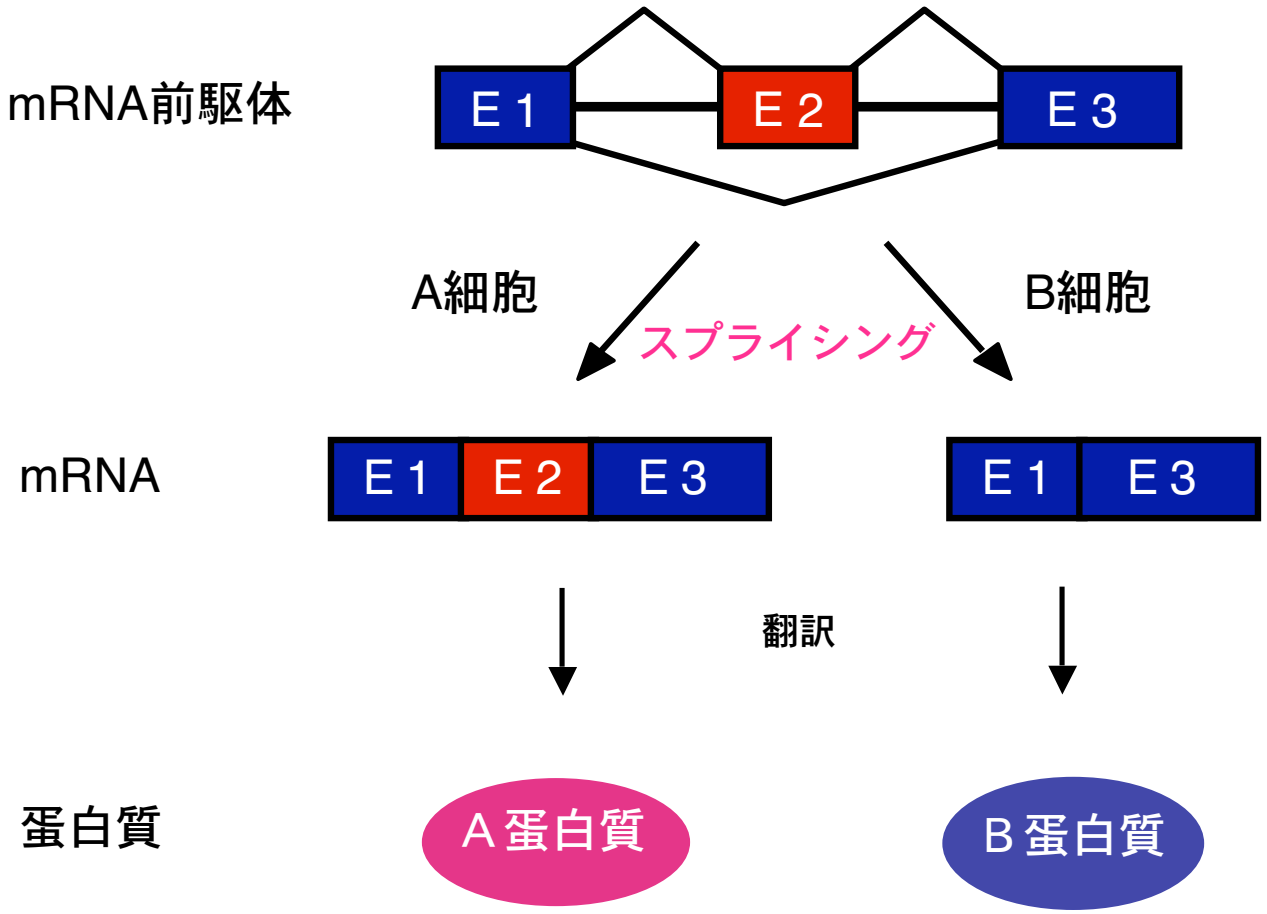
☆ 非コード性RNA(noncoding RNA)による制御

遺伝子の多くはイントロンにより分断化されている



転写されたRNA産物からイントロンが除去される

選択的スプライシングによる遺伝子発現制御



１遺伝子から異なる蛋白質が作られる！

選択的スプライシングの重要性

蛋白質発現の多様化システム

・１つの遺伝子から複数種の蛋白質が生成

・ヒト遺伝子の６割以上で選択的スプライシング

（２万数千の遺伝子で３０万種程度の蛋白質）

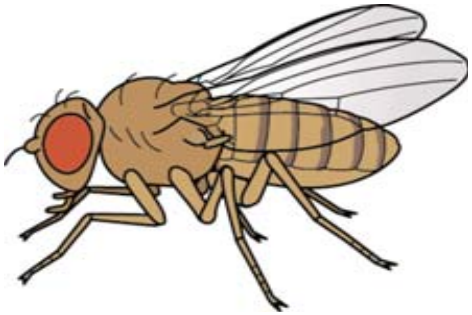
発生分化制御システム

・時期・組織特異的なスプライシング

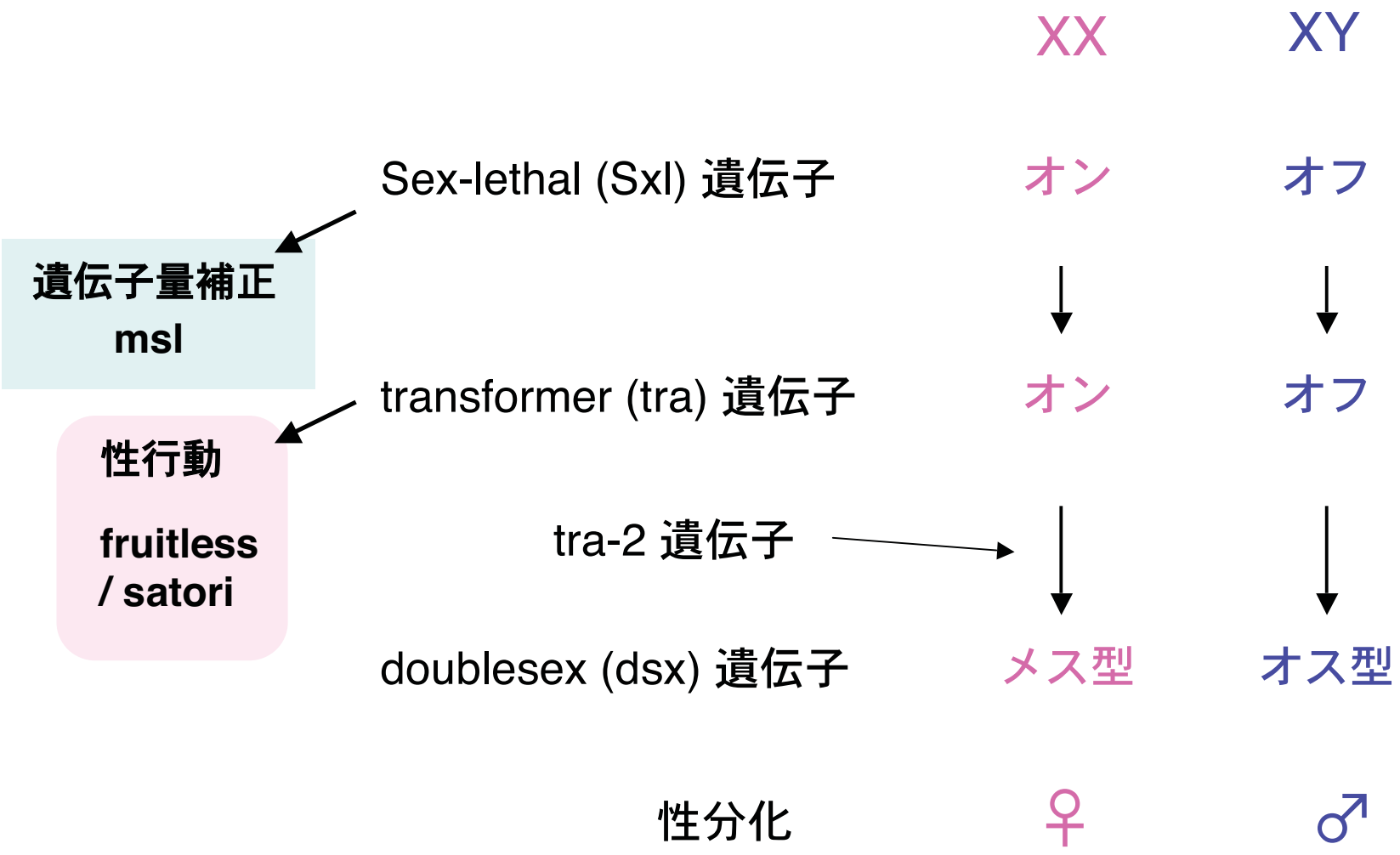
ショウジョウバエの性決定過程は、

選択的スプライシングのカスケード系

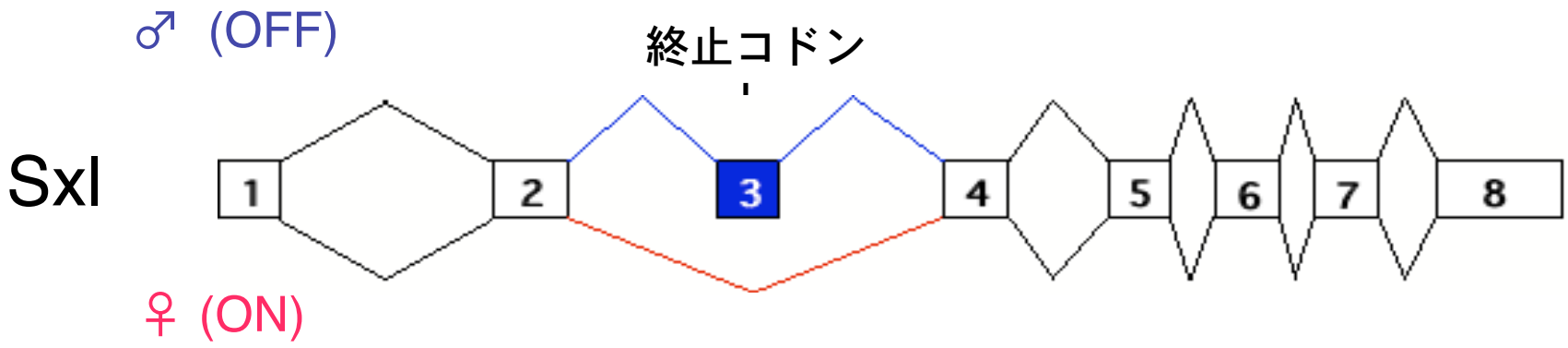
によって制御される。

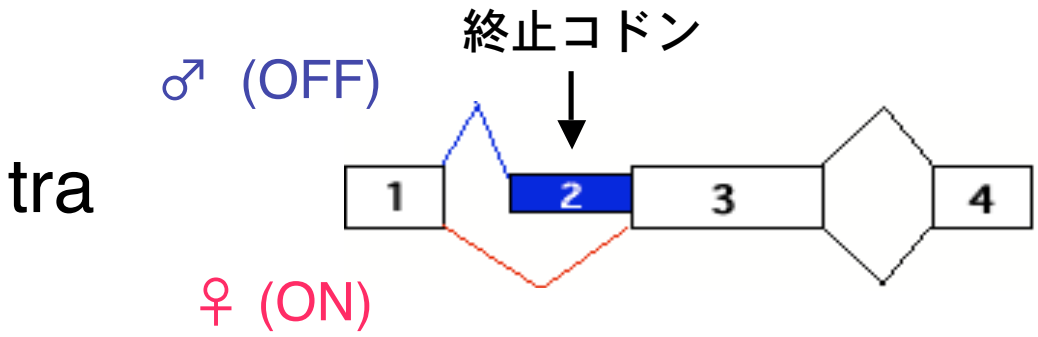


ショウジョウバエ体細胞における性決定



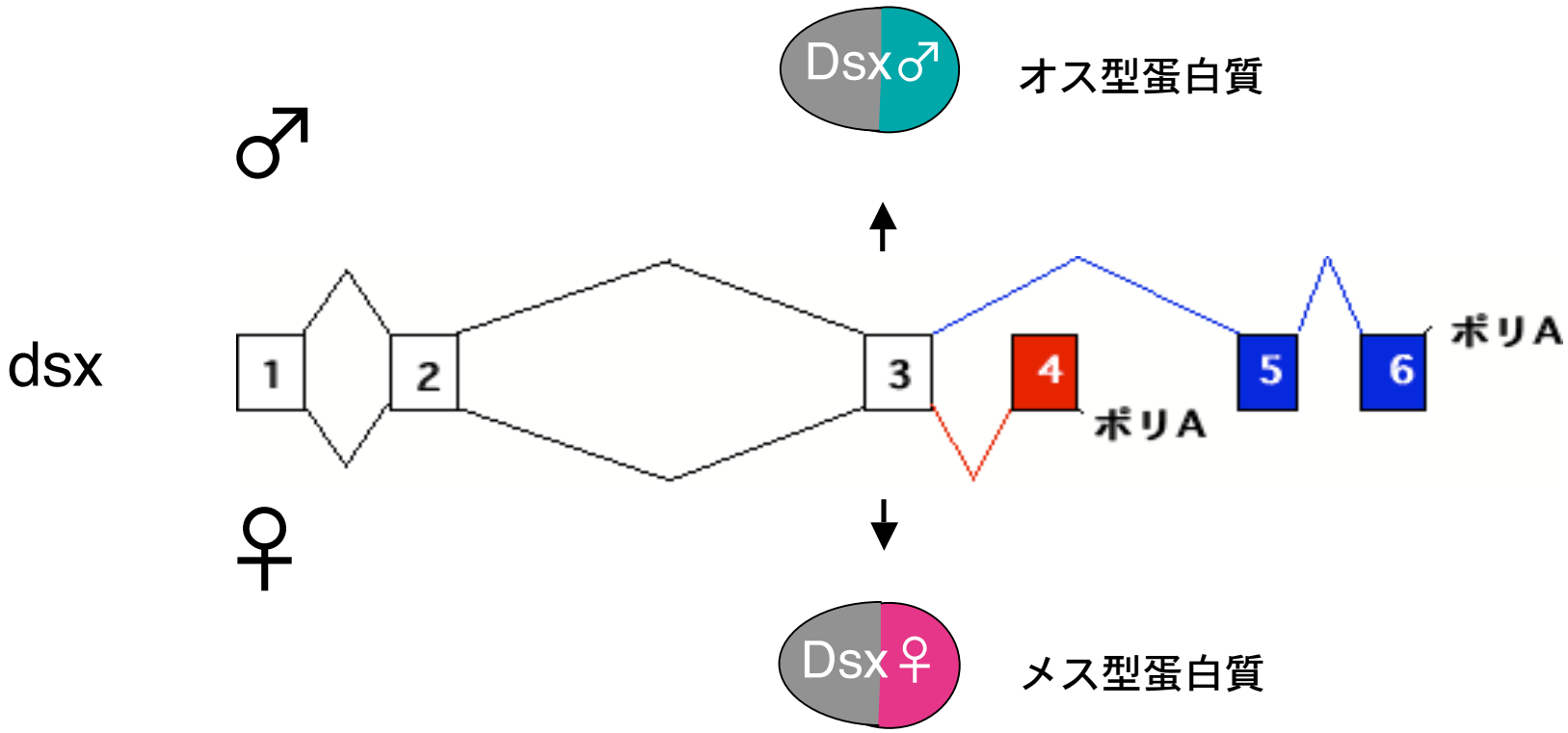
ショウジョウバエ Sxl, tra 遺伝子における選択的スプライシング





雌でのみ機能を持った蛋白質が生成する

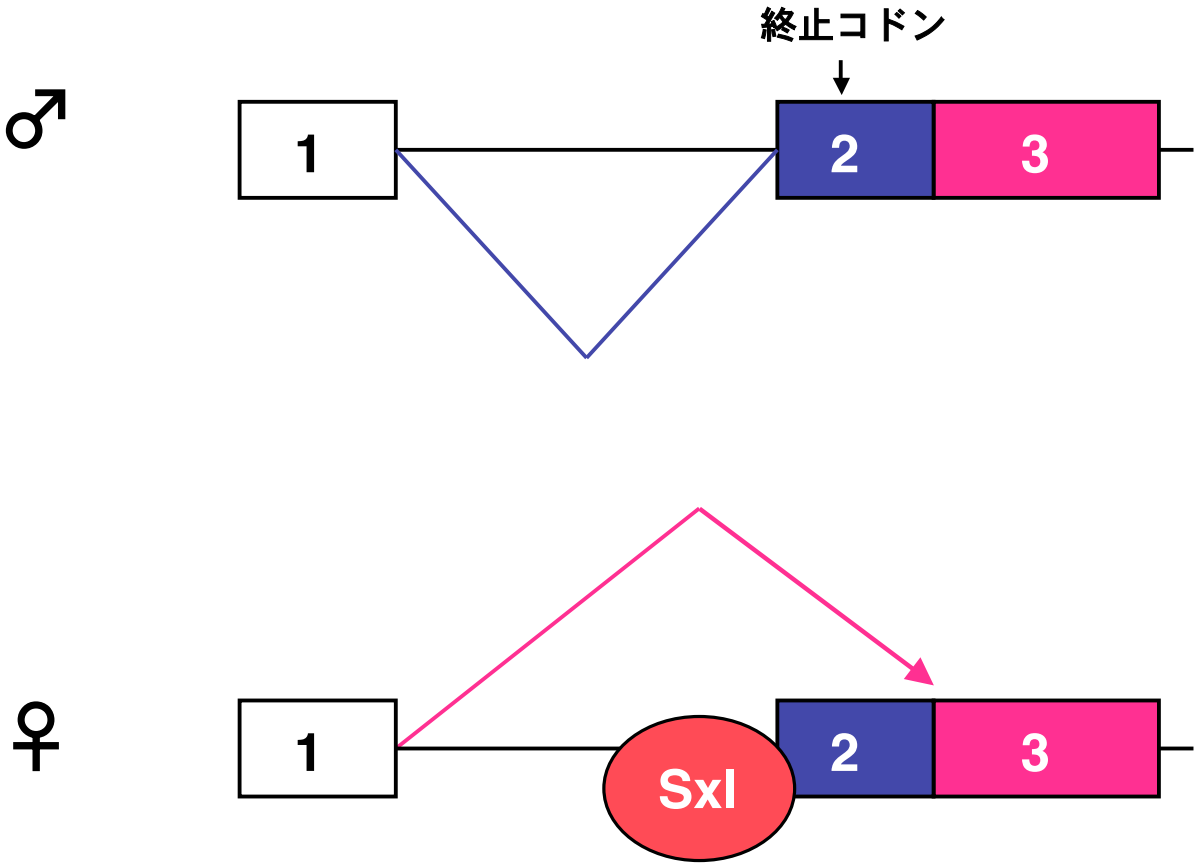
ショウジョウバエ dsx 遺伝子における選択的スプライシング



雌雄で異なる機能を持った蛋白質ができる

tra遺伝子における性特異的スプライシング制御機構

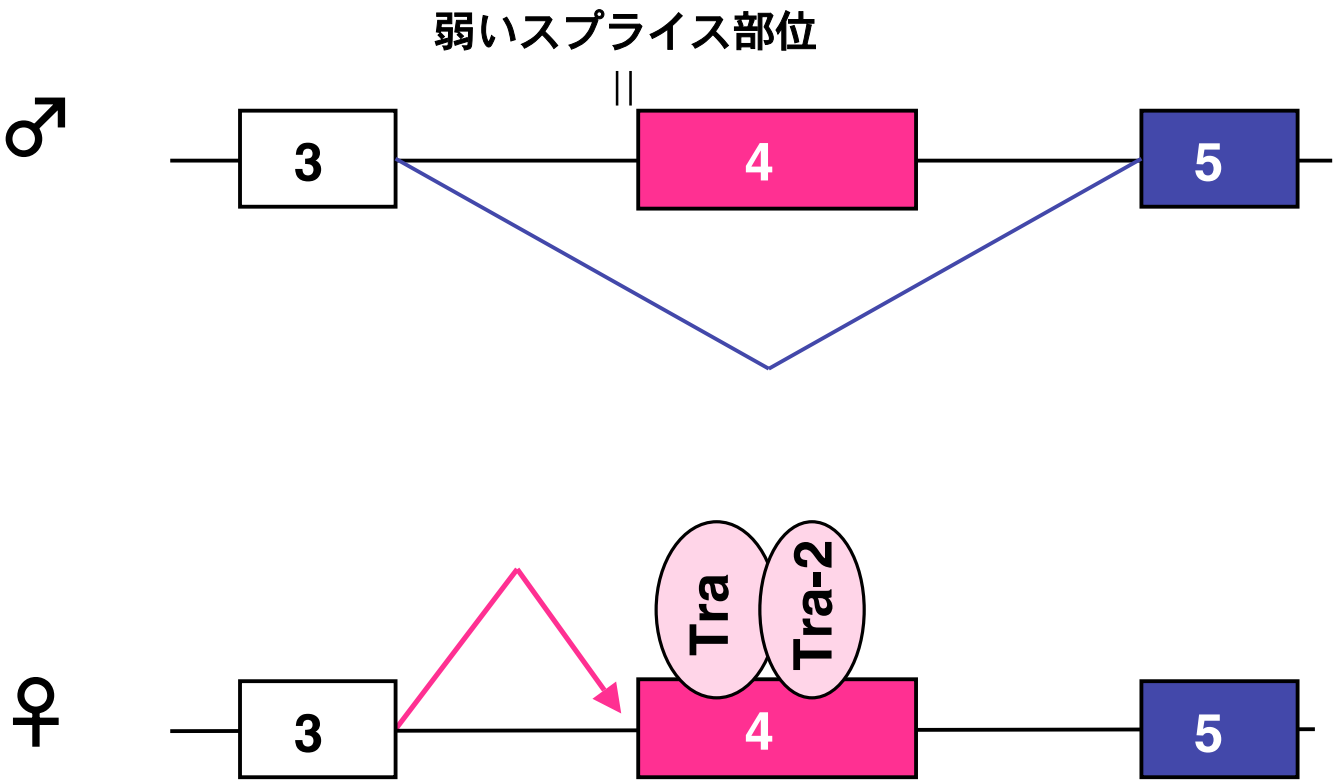
Inoue, K. et al., *Nature*, 1990



雄型スプライス部位の抑制

dsx遺伝子における性特異的スプライシング制御機構

Hoshijima, K. et al., *Science*, 1991
Inoue, K. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci*, 1992



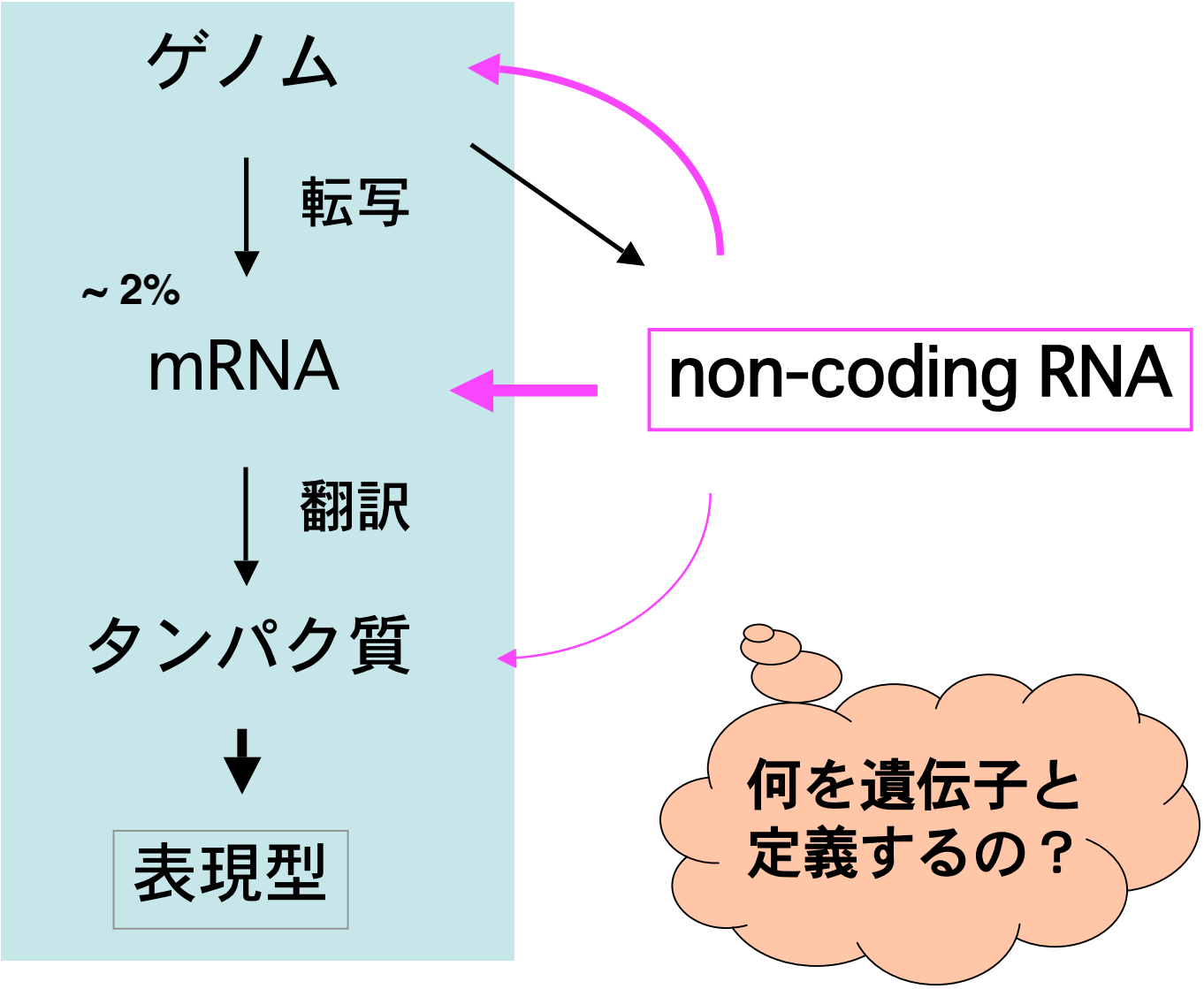
雌型スプライス部位の活性化

RNAレベルで形質発現の多様性・複雑さを生む戦略

☆ 蛋白質をコードするmRNAの選択的スプライシング

☆ 非コード性RNA(noncoding RNA)による制御

蛋白質をコードしないnon-coding RNAによる形質発現制御



RNAによるサイレンシング機構の発見

二本鎖RNA(dsRNA)によるサイレンシング機構 (1998)

→　**RNA干渉 (RNAi)** の発見

2006年ノーベル医学生理学賞：Fire博士とMello博士

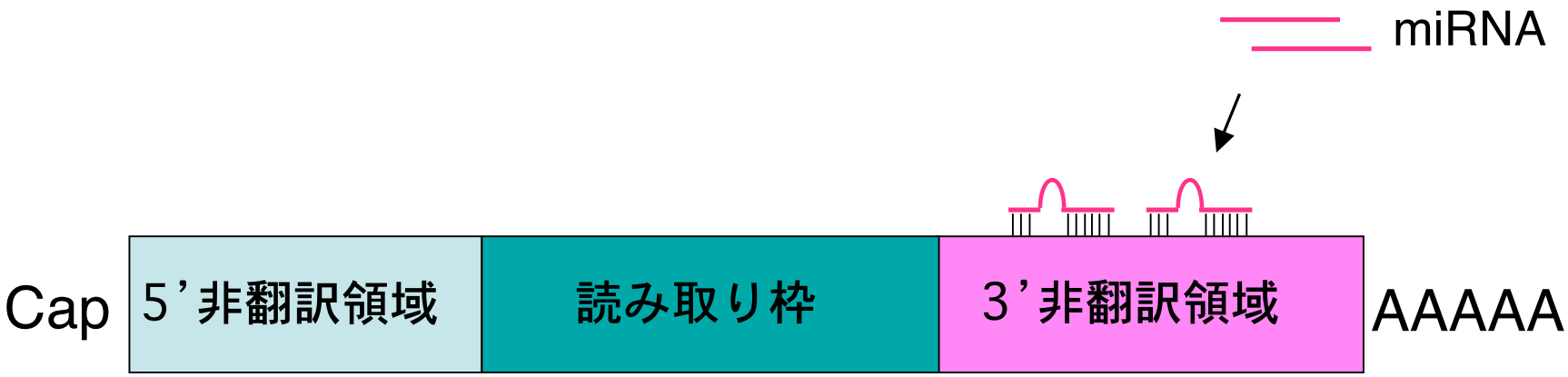
線虫 lin-4 RNAによるlin-14の制御 (1993)

線虫 let-7 RNAの同定と進化的保存性 (2000)

→　膨大な数のmicroRNAの同定、研究の急進展

microRNA (miRNA)とは？

・蛋白質に翻訳されないnon-coding RNA
・一本鎖の小分子RNA（20~25塩基）
・相補性配列を有するmRNAの翻訳抑制や分解制御
　→　5'側のseed配列（+2-7番目の塩基配列）が重要
・発生分化、細胞増殖、細胞死などに重要な役割
・線虫112種、ヒトでは少なくとも500種のmiRNA
　→　ヒト遺伝子の約3割を制御すると推定されている



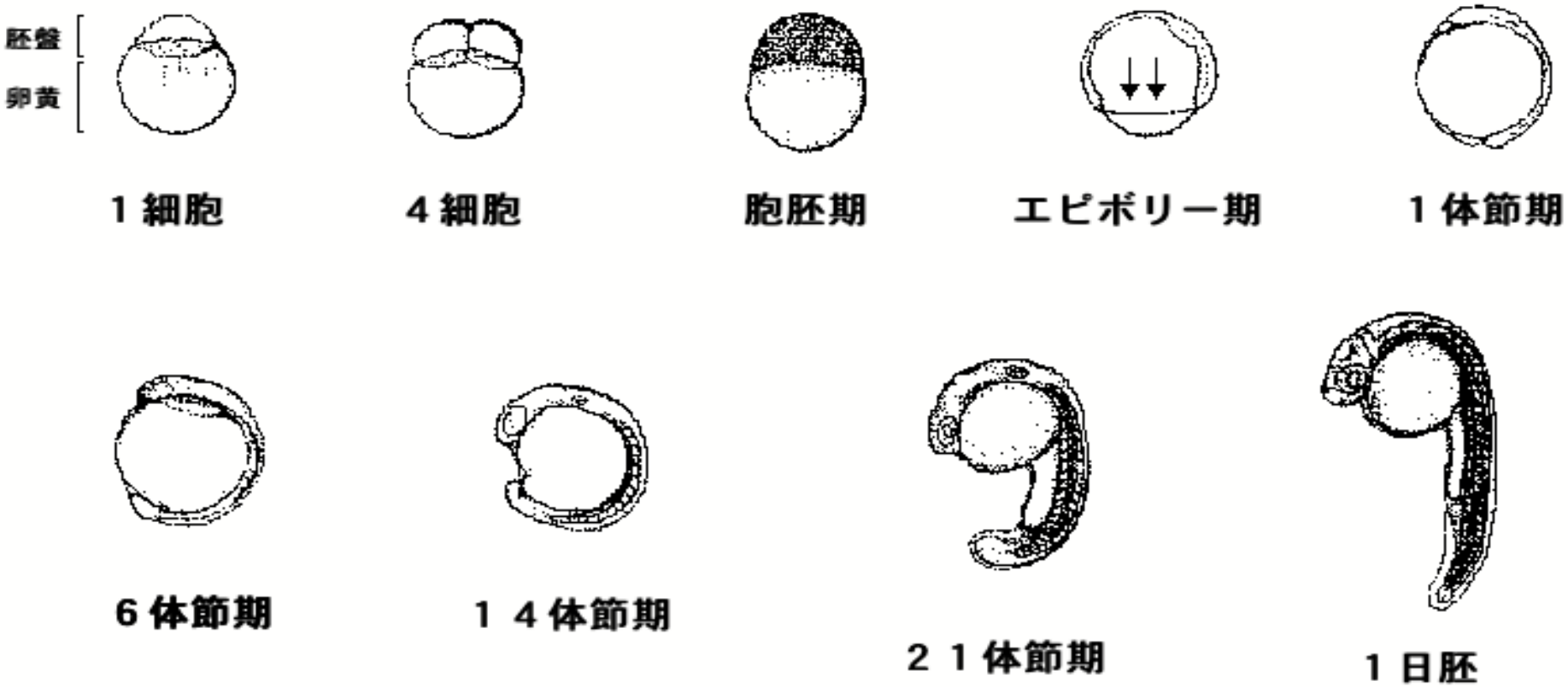
小型淡水魚 ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)

・明暗サイクル（14 時間／10 時間）、水温 28.5 度。
・世代時間 約 3 ヶ月。
・多産、初期発生早く、胚が透明。
・さまざまな発生分化過程や疾患を研究するモデル実験生物
　（分子発生生物学的手法や遺伝学的解析）
・miRNA欠損変異体（dicer変異体）が同定されている

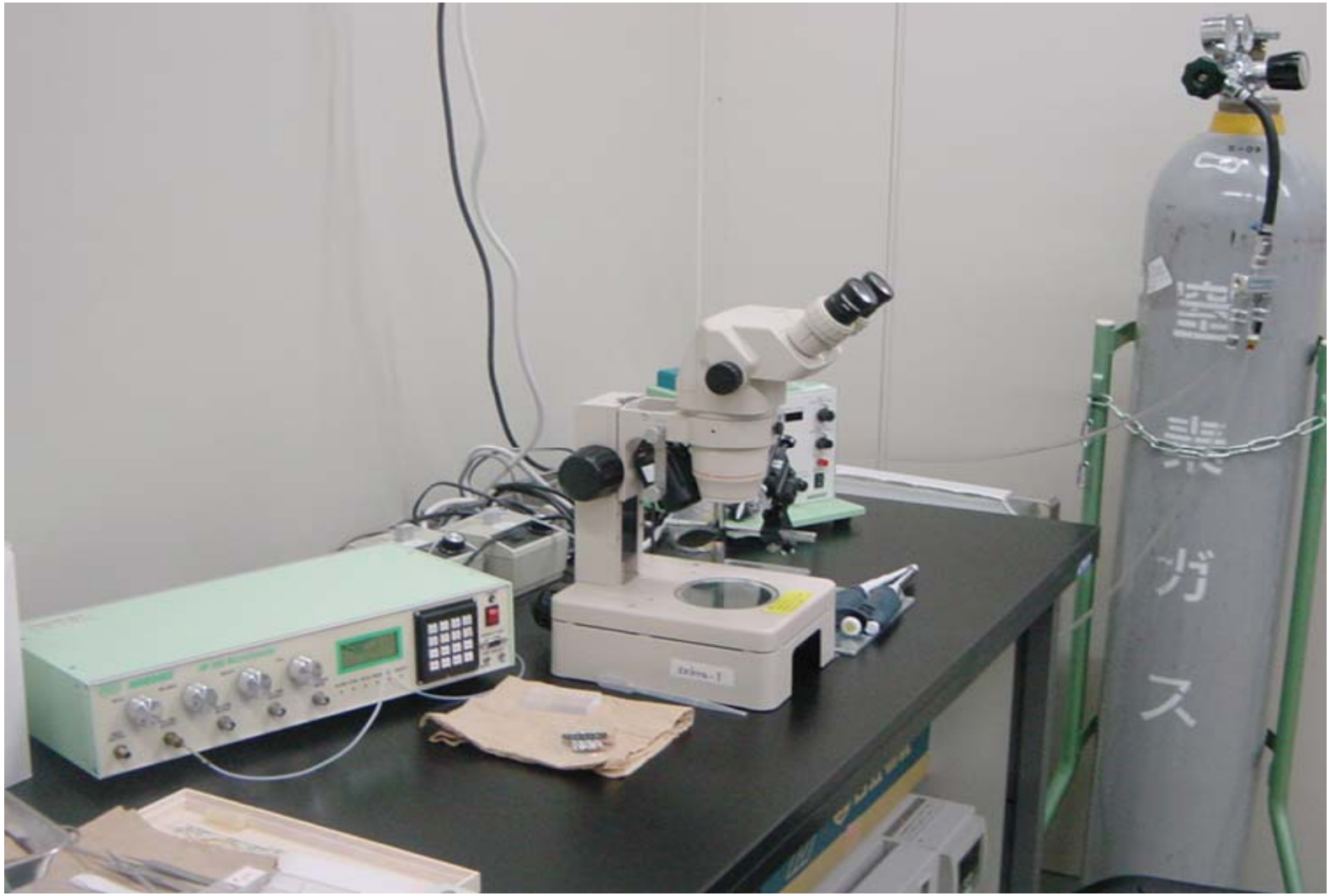
ゼブラフィッシュの飼育水槽

ゼブラフィッシュの初期発生過程

卵割（盤割）　　覆い被せ運動



インジェクション装置と実体顕微鏡
(mRNAやmiRNAを受精卵に微量注入する)



ゼブラフィッシュ生殖細胞・体細胞の

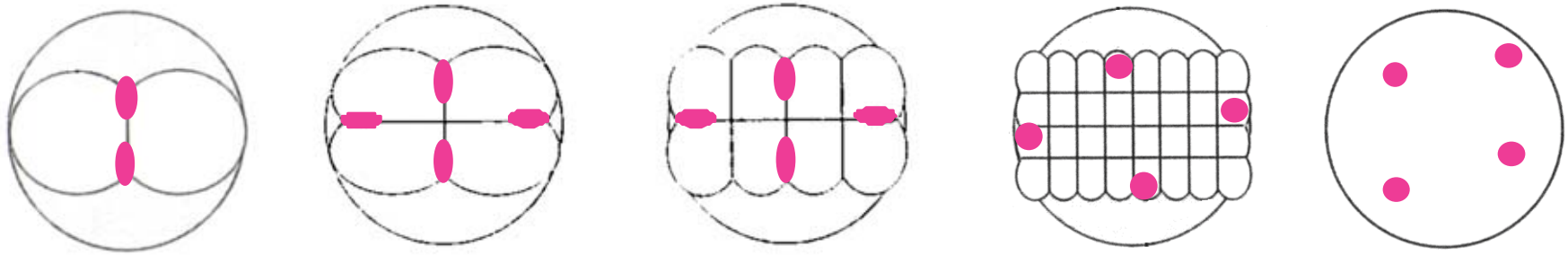
分化確立過程に働くRNAプログラム

ゼブラフィッシュvasa, nanos１遺伝子の発現様式

Yoon et al, 1997; Koprünner et al, 2001

母性mRNAが卵割面両端に局在

４つの細胞に取り込まれる　非対称分配



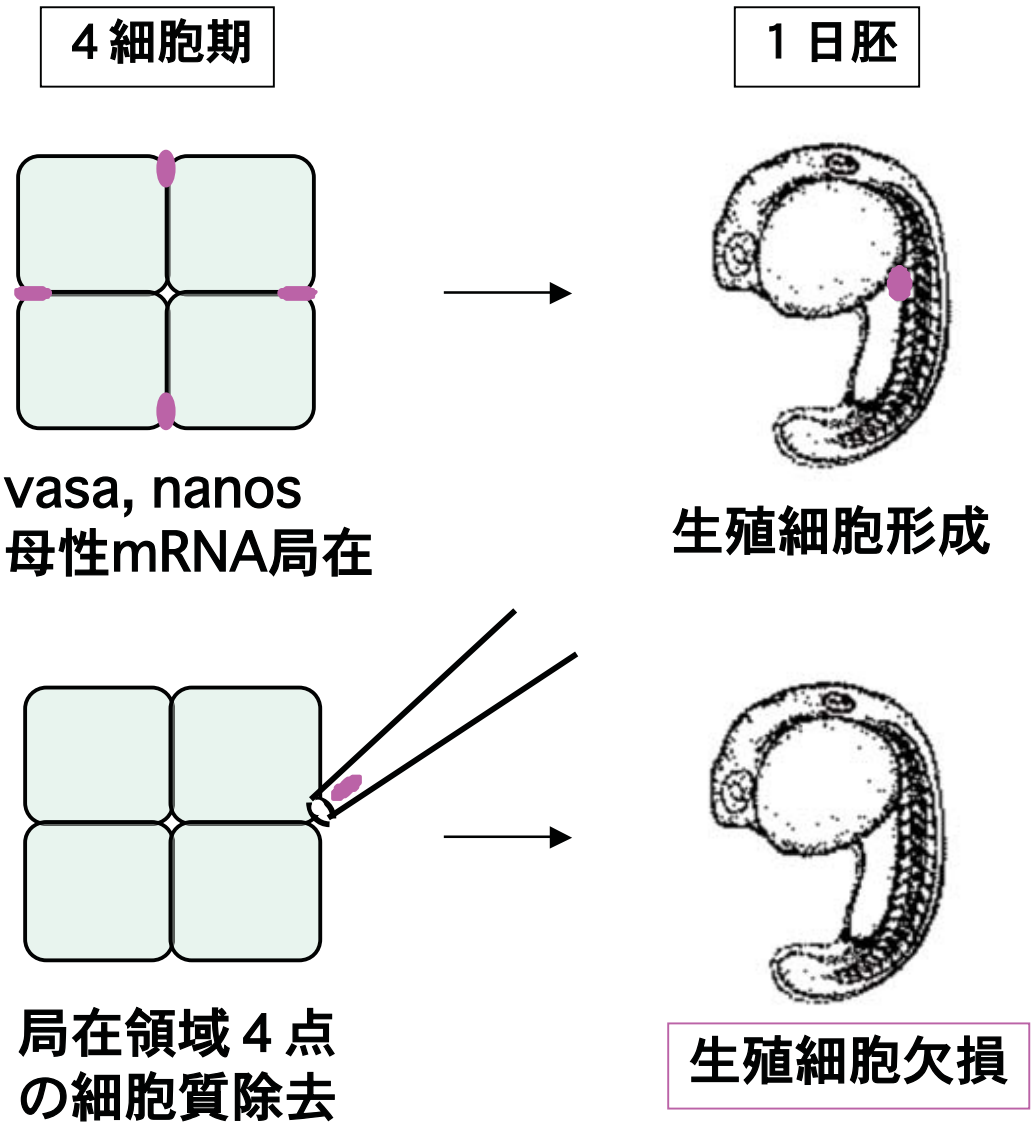
2-cell　4-cell　8-cell　32-cell　1000-cell

細胞数の増加・移動

50% epiboly　80% epiboly　6 somites　24 hr

vasa, nanos mRNA を含む細胞質は生殖細胞決定因子である

Hashimoto et al., *Dev. Biol.*, 2004

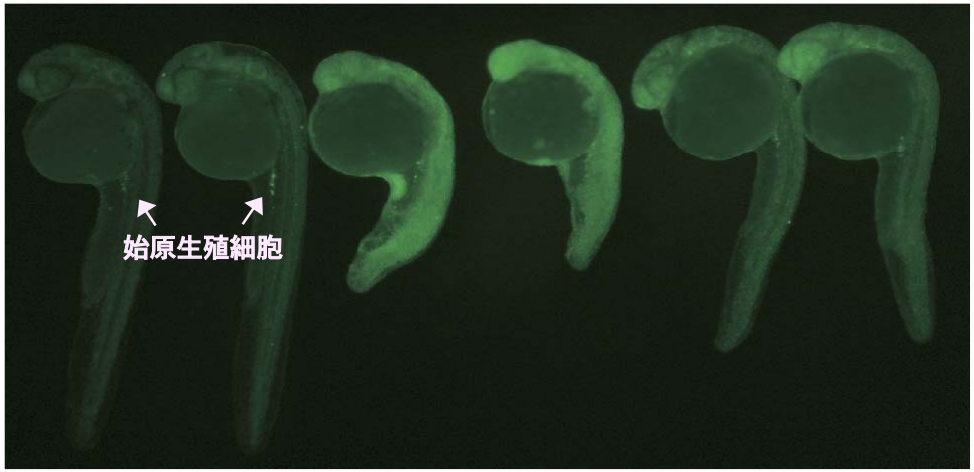


miR-430がnanos mRNAの発現を抑制する

Mishima et al, ***Current Biol***, 2006;
Giraldez, Mishima, et al, ***Science***, 2006

```
                                                  seed
          miR-430 3′ GAUGGGGUUGAACUA--UCGUGAAA  5′
                     |  :| | ::|||||   |||||||
nanos Ib 5′ --UGUGUGCGUUCACUGUUUGAUUUUGCACUUUUUUUGUGUGUGUGUAUAUGUGUGUG---- 3′
```

野生型	*dicer* 変異胚 (miRNA 欠損胚)	
−	−	+ miR-430

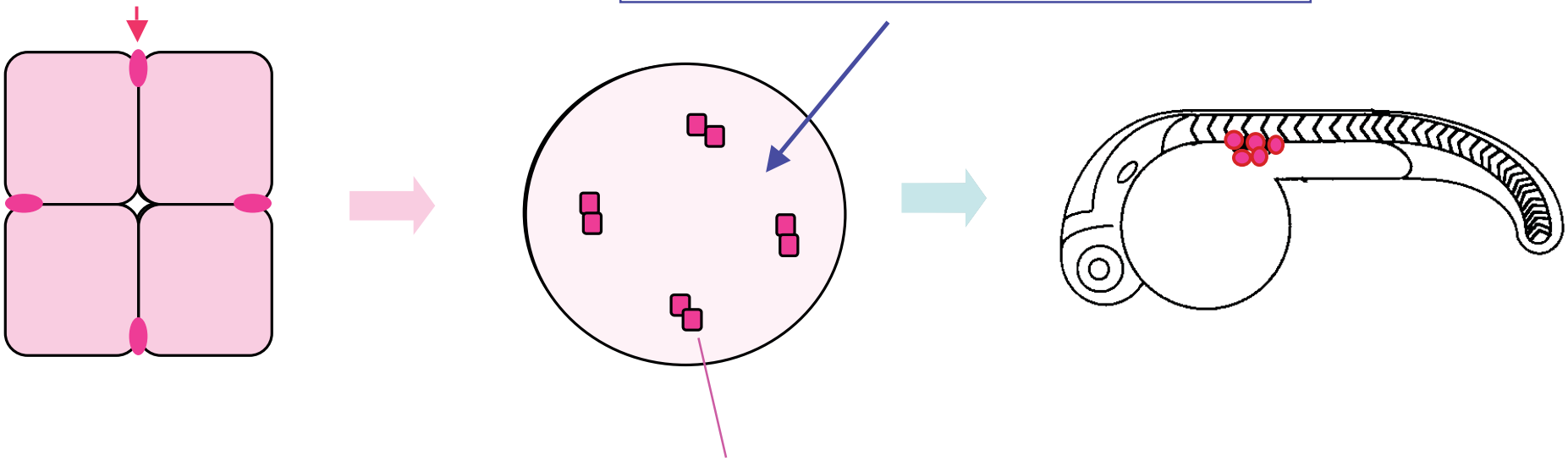


GFP-nanos 3’UTRレポーターmRNAの発現

ゼブラフィッシュ生殖細胞・体細胞の分化確立

局在化母性RNPによる
生殖細胞形成プログラム

体細胞では、miRNAにより
生殖細胞形成プログラムを抑制



産経

生命の謎 解明へ前進

ひと人ヒト

小型淡水魚の初期胚に豊富に含まれる特定のマイクロRNA（リボ核酸）が、発生異常の原因にもなる不要になったmRNA（メッセンジャーリボ核酸）を分解、抑制する働きがあることを突き止めた国際共同研究チームの井上邦夫さん（41）＝神戸大理学部生物学科助教授。

「いろんなマイクロRNAの働きを知ることで生命プログラムの解明に近づくとともに、遺伝病の治療法や医薬品の開発につながる」と話す。

米ニューヨーク大医学部や英国サンガー研究所とともに手がけた共同研究では、小型淡水魚ゼブラフィッシュの初期胚に豊富に含まれるマイクロRNAの一つ「miR―430」が、不要になったmRNAを分解・抑制する働きがあり、正常な発生を保証することなどを証明した。米科学誌「サイエンス」に掲載された。

神戸大助教授

井上　邦夫さん

読売

マイクロRNA

正常な成長に欠かせません

神大、米英国際研究グループ

細胞の中で遺伝情報を格納庫のDNA（デオキシリボ核酸）から、RNA（リボ核酸）という物質に写し、たんぱく質を作ることが、生命の基礎となる活動だ。従来、RNAは伝達役に過ぎないと見られていたが、神戸大と米英の国際研究グループは、RNAでも小さな分子「マイクロRNA」が、生物が正常に育つのに欠かせない働きを持つことを突き止めた。

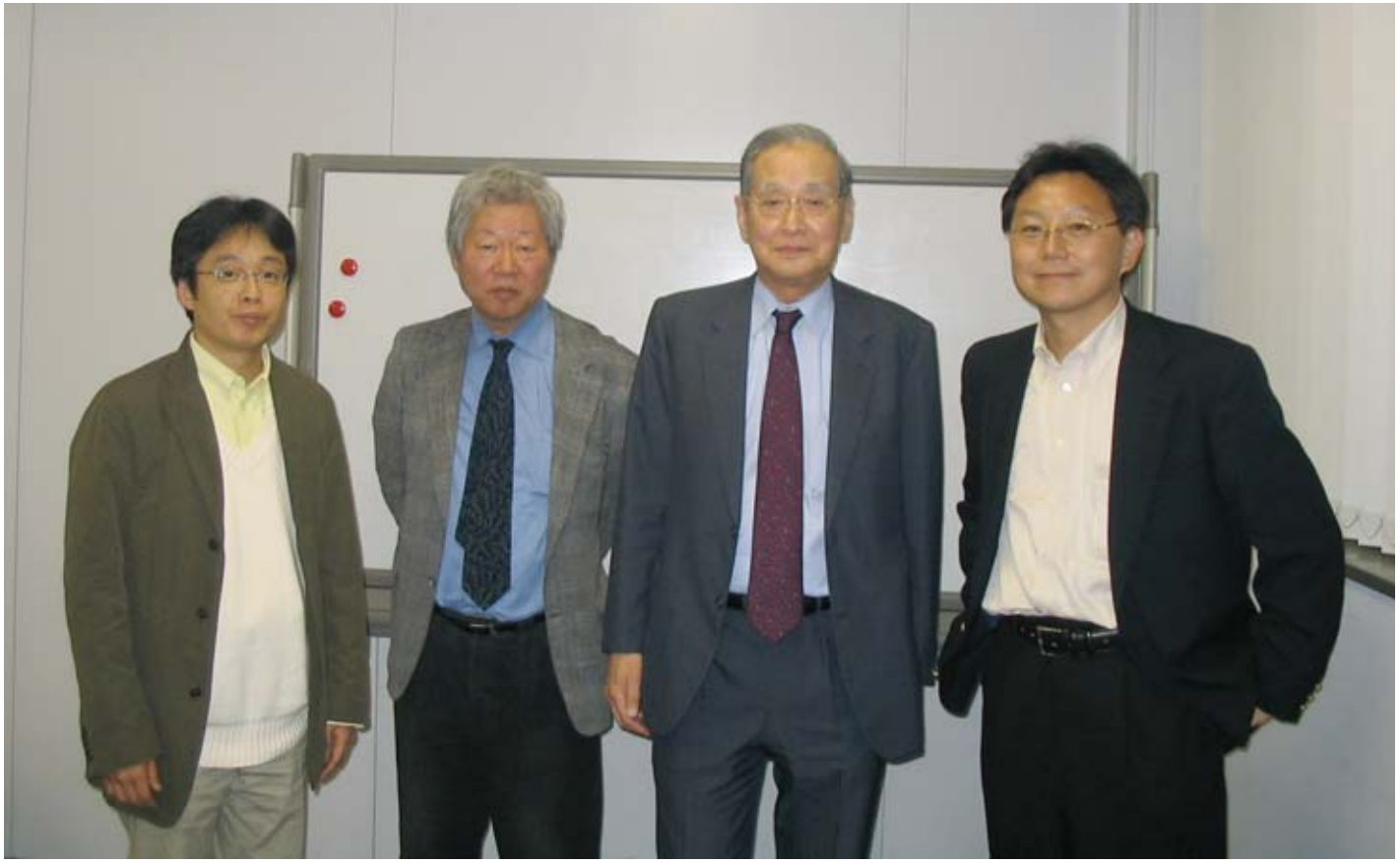
マイクロRNAは最近、情報伝達をする、長い分子「メッセンジャー（m）RNA」にくっついて働きを抑えたり、分解したりすることが分かってきていたが、今回、この機能が体を作り上げる、大きな過程に関与していることを示した。

研究グループは、実験動物の魚、ゼブラフィッシュを使い、遺伝子を改変して、ある酵素がないため、発生しても脳や心臓をつくることができない受精卵をつくり、この卵に「miR－430」というマイクロRNAを加えると、発生異常が少なくなることに注目した。

受精卵の中では、受精後のごく初期には母方のmRNAが働くが、ある時期になると受精卵自身のmRNAが働く。このタイミングなどのバランスが崩れると様々な異常が起きる。グループは、miR－430が結合の標的にしているmRNAを探し出し、約160種類の候補に絞り込んだところ、母方のmRNAに結合して、働きを抑えることで、正常な発生を保っていた。

グループの井上邦夫・神戸大助教授は「ゲノム（全遺伝情報）の3割はマイクロRNAの調節を受けていると見られている。もはやたんぱく質と遺伝子だけでは生命の機能を知ることはできない」と話している。

研究成果は、米科学誌サイエンス電子版に発表した。



井上　　立花　　志村　　塩見