

○課題名 「ヒト全遺伝子機能解明のための基盤技術開発」
○研究代表者「西郷 薫」
○中核機関名「東京大学大学院理学系研究科」

研究の目標・概要

1 目標

ヒトの遺伝子の機能解析は、ゲノム創薬の要であり、そこでは基礎研究と応用研究が、表裏一体の関係にある。ここでは特に、1) ゲノムワイドでのヒト遺伝子機能破壊を siRNA を用いて効率的に行うための基盤技術の確立、2) その部分的実践、及び3) protein transduction による網羅的な外来遺伝子機能導入技術の確立を目指す。

3年後の目標

3年後までには、siRNA の塩基配列要求性に関する経験則や、低成本での siRNA 調製技術等が確立し siRNA による効率的なヒトゲノム機能破壊技術が実用化段階に達している。また網羅的な protein transduction のための条件が整う。

○ヒト培養細胞やヒト幹細胞を用いたヒト遺伝子機能破壊実験をゲノムワイドで本格化。

○ヒト siRNA による遺伝子破壊機構の解明。

○protein transduction や siRNA によるヒト遺伝子機能の本格的かつ網羅的な解析の開始。

2 内容

ヒト全ゲノム遺伝子機能解析や将来的幹細胞 ES 細胞からの制御された臓器形成を可能にする、 siRNA 等の基盤技術の開発と実践。 protein transduction による外来遺伝子機能導入技術の確立。

3 新規性

2 1 塩基長の短い siRNA の塩基配列要求性の分子機構解明に基づいた、効率的 RNAi による哺乳類遺伝子機能破壊法であること。ゲノムワイドの RNAi によるヒト遺伝子の機能破壊の実践を含んでいること。 protein transduction の網羅的実施システムの確立。

諸外国の現状等

1 現状

哺乳類培養細胞で RNAi が起こることは、我々が世界に先駆けて報告した。しかし、その後、哺乳類では、我々が用いた長い dsRNA による RNAi は、非常に限られた種類の細胞でしか起こらず、21 塩基という短い dsRNA (siRNA) がよりよいとの報告が Hammond 等によりなされて以来、 siRNA-RNAi が主流になってきている。しかし、 siRNA は、その製造コストが高くまた、その多くが機能しないという問題があった。 siRNA の DNA を用いたより安価な in vitro 合成法が最近報告され、 siRNA に関する問題の一部が解消できそうになってきたが、 siRNA 機能の高い塩基配列の効率的推定法に関しては、大きな進展はない。我々は、我々の研究で、この問題は、おおよそ解決できつつあると考えている。

2 我が国の水準

データとしての公表は、限られているが、ヒト細胞を用いた RNAi や protein transduction は多くの大学、企業で試みられている。しかし、ゲノムワイドの機能破壊・導入実験はまだ報告がない。マウスでは個体レベルでの変異体構築の基礎実験が、基礎生物学研究所と三菱化学の子会社との間で始められている。

研究進展・成果がもたらす利点

1 世界との水準の関係

siRNA 塩基配列の DNA-RNA キメラ解析は、全く新しい試みであり、世界に類を見ない。この解析で、21 塩基という短い配列のなかに、 RNAi 機能に関する分業があることがみいだされ、それに基づいて siRNA の配列情報を解析できたことが我々の研究の成功の大きな基礎となっている。本研究が成功すれば、単にヒト遺伝子の機能解析が世界的に進むだけでなく、幹細胞、ES 細胞の一過的かつ多段階的遺伝子操作を行うことが可能になる。

2 波及効果

siRNA の塩基配列要求性に関する経験則や全ヒトやマウスゲノム遺伝子破壊に必須な共通 siRNA 塩基配列が確定すると、ヒト siRNA を用いて、当該生物の培養細胞を用いるだけで、ウシや馬、豚といった家畜やイヌ、ネコ等のペットの遺伝子機能解析も可能になることである。特にこの場合、これらの生物の遺伝子配列はほとんど必要ない。また、 siRNA は全てのウイルス性疾患の潜在的治療薬であるが、この実用化に大きな弾みがつくことになる。最後に残された課題が、 siRNA の患部への効率的輸送法だけとなるからである。 siRNA 、 protein transduction とも幹細胞、 ES 細胞からの臓器形成のメカニズム解明や、効率的な目的臓器への誘導研究にも大きな援軍となると期待される。

「ヒト全遺伝子機能解明のための基盤技術開発」の研究体制

中核機関としての東京大学と、共同機関である三菱生命研が密接な連携を保ちながら研究を推進する。

東京大学大学院理学系研究科（中核機関）

「ヒト全遺伝子機能解明のための基盤技術開発」

- 有効siRNA塩基配列決定則の確立と哺乳類共通siRNAのセットの決定
- ヒトゲノム遺伝子の分類及び対応siRNA配列の決定
- Dicerの大量調製と合理的コストでの新規siRNA調製法の開発
- その他siRNA-RNAiの基盤技術開発
- ヒト培養細胞を用いたsiRNA-RNAiによるヒト遺伝子の網羅的解析
- ヒト幹細胞を用いたsiRNA-RNAiによるヒトの発生分化メカニズムの解析
- OPTのためのタンパク質発現用ORFクローニング、新規PT技術の開発及びHP化
- 総括

効率的RNAi法

PT関連情報、
siRNA-RNAiによる遺伝子機能破壊情報

三菱化学生命科学研究所（共同機関）

「siRNA, protein transductionを用いたヒト遺伝子機能解析に関する応用的研究」

- siRNAを用いたヒト遺伝子の網羅的機能解析とsiRNA-RNAiのHP化
- セルチップを用いたヒト培養細胞ライプラリの構築
- ヒト幹細胞を用いたsiRNA-RNAi技術の開発
- マウスES細胞でのsiRNA-RNAiの開発と疑似胚とそのsiRNA-RNAiによる組織形成に係わる遺伝子の機能解析
- OPTのためのタンパク質発現系の開発とHP化