

RNAi の機構

RNAi(RNA interference)とは、siRNA(short interfering RNA)と呼ばれる 21 mer ~ 23 mer の二本鎖 RNA により配列特異的に遺伝子発現が抑制される現象である。1998 年に Fire¹⁾らが線虫にて二本鎖 RNA が配列特異的に遺伝子のサイリングを引き起こすことを発見して以来、21 ~ 23mer にプロセッシングされた RNA が mRNA を切断する機構²⁾や RISC (RNA-induced silencing complex) の存在³⁾、Dicer のクローニング⁴⁾を経て、2001 年に Elbashir ら⁵⁾により哺乳類細胞でも siRNA による配列特異的な発現抑制が可能であることが証明され、RNAi 技術を用いた研究は一気に盛んになった。

図 1 に線虫における RNAi の機構を示す。哺乳類細胞においては 21 ~ 23mer の二本鎖 RNA を細胞質内に存在させる事により RISC の活性化以降の反応が起こるとされている。

いかに細胞内で 21 ~ 23mer の二本鎖 RNA を存在させるか、大きく 2 通りの方法が現在用いられている。予め 2 本鎖 RNA を作製しておいて細胞内にトランスフェクションする方法と、発現ベクターを細胞にトランスフェクションして二本鎖 RNA を発現させる方法である。

Takara では、この両方の方法に対応した製品をしており、さらには効果的な RNA 配列検索サイトや RNAi 効果を数値化するための real time RT-PCR、ベクター作製受託などその周辺技術も網羅している。本ガイドブックでは、それらタカラバイオ製品を中心に、主に初心者向けに RNAi 実験技術を紹介する。

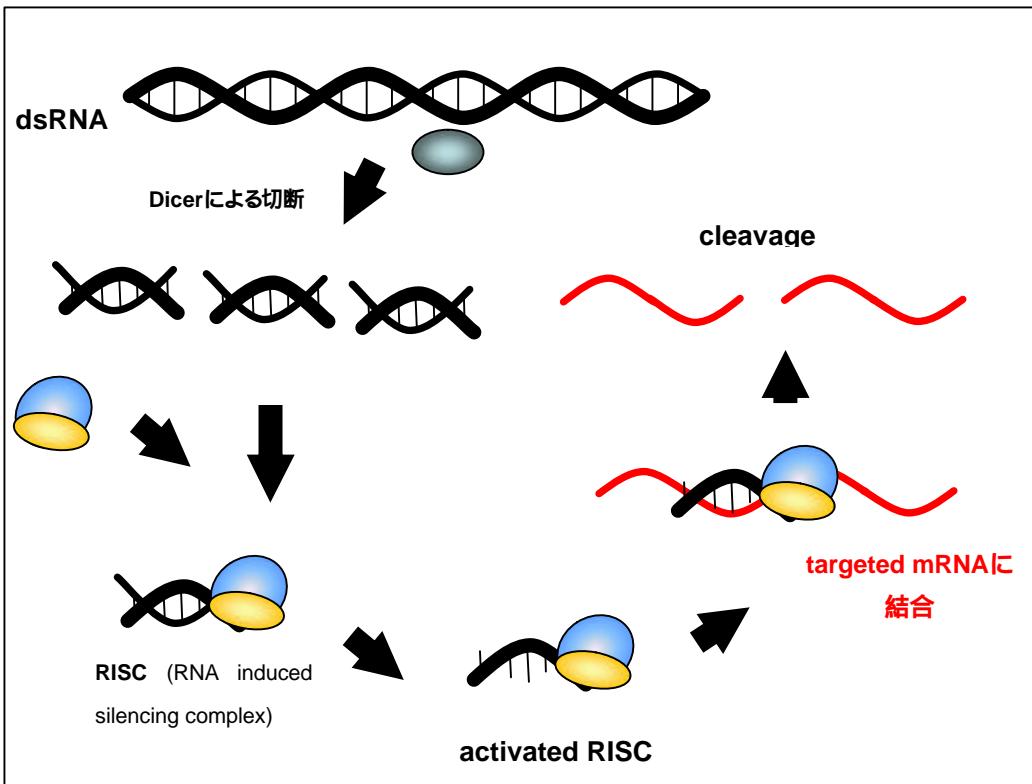


図1 線虫におけるRNAiの機構

参考文献

- 1) Fire, A. et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. (1998) *Nature* 391, 806-811.
- 2) Zamore, P. O., Tuschl, T., Sharp, P. A. & Bartel, D. P. RNAi Double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. (2000) *Cell* 101, 25-33.
- 3) Hammond, S. M., Bernstein, E., Beach, D. & Hannon, G. J. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. (2000) *Nature* 404, 293-296.
- 4) Bernstein, E., Caudy, A. A., Hammond, S. M. & Hannon, G. J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. (2001) *Nature* 409, 363-366.
- 5) Elbadhir, S. M. et al. Duplexes od 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. (2001) *Nature* 411, 494-498.