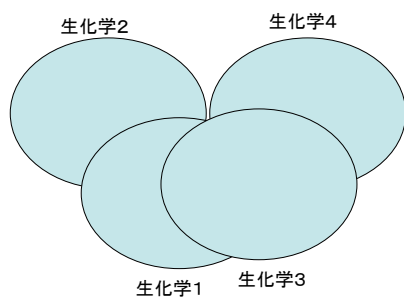
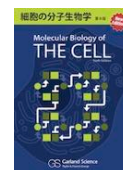


H27.4.13分

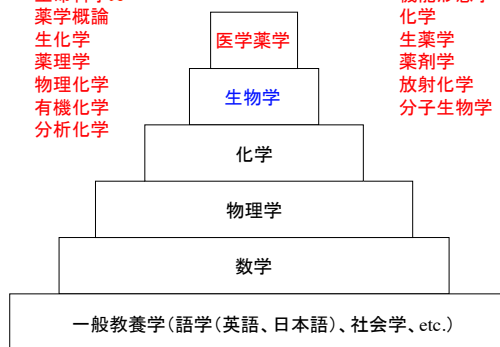
教科書

- Essential細胞生物学  
南江堂  
中村桂子、松原謙一
- ベーシック薬学教科書シリーズ 8生化学  
化学同人  
中西義信編
- Molecular Biology of the Cell 6th edition  
Garland Publishing, Inc.  
生命科学分野の世界標準テキスト



生命科学A  
薬学概論  
生化学  
薬理学  
物理化学  
有機化学  
分析化学

機能形態学  
化学  
生薬学  
薬剤学  
放射化学  
分子生物学



ものの大きさ

- 陽子 → 原子 → 低分子 → 高分子
- オルガネラ → 細胞 → 臓器 → 個体
- 家 → 町 → 仙台 → 宮城県
- 日本 → 地球 → 太陽系
- 銀河 → M78星雲 → . . . .

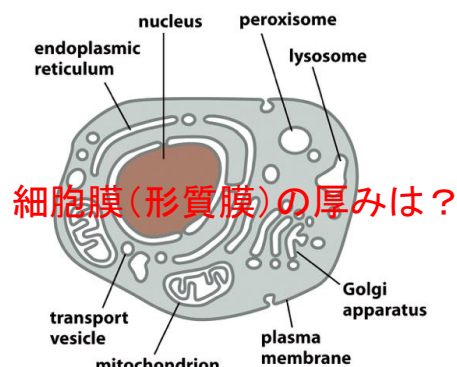
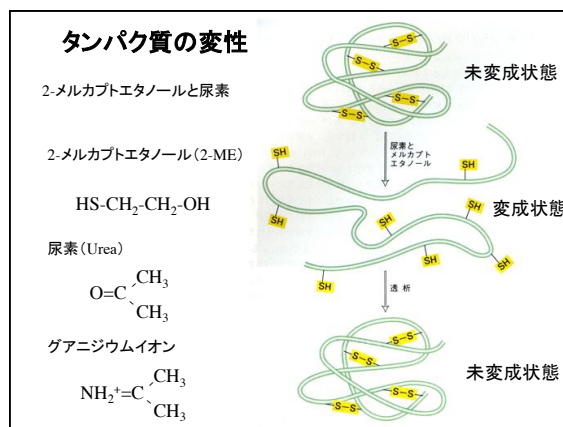


Figure 11-3 Essential Cell Biology (© Garland Science 2010)

$$50 \mu\text{m} : 5 \text{ nm}$$

$$= 10 \text{ m} : X$$

$$X = 1 \text{ mm}$$



H27.4.20, 27分

タンパク質の高次構造は**1次構造**で決定されるのか？

タンパク質の構造は常に一定か？

タンパク質はどれくらい似ていれば(相同性があれば)似た高次構造をとるのか？

⇒ タンパク質全体に渡り**30%以上**のアミノ酸の相同性があれば、そっくりな高次構造を持つことが知られています。30%以下の相同性でも似ている場合は多くあります。

タンパク質の構造の4階層

1次構造: アミノ酸の配列

2次構造: 数10アミノ酸からなる局所的な高次構造  
αヘリックス、βシートなど

3次構造: 2次構造の集合によるタンパク質**1分子**の高次構造

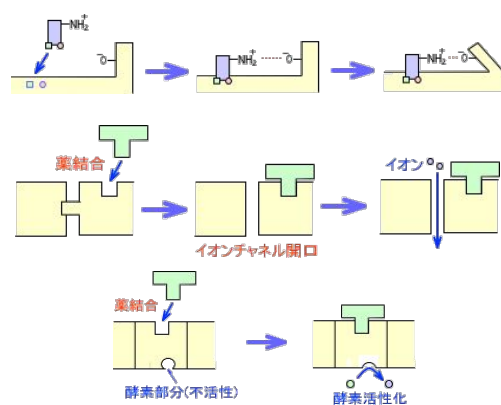
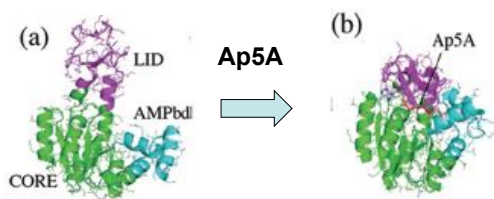
4次構造: **複数**のタンパク質分子の集合体を作る構造

1次構造

```
NH2 1 MSSVQSQQEQLSQSDPSPSPNSCSSFELIDMDAGSLYEPVSPHWF
YCKIIDSKETWIPFNSEDSQQLLEEAYSSGKGCNGRVVPTDGGRYDVHLGER
MRYAVYWDELASEVRRCTWFYKGDKNKYVPYSESSSQVLEETYMLAVTLD
EWKKKLESPNREIIILHNPKLMVHYQPVAGSDGWGSTPTEQGRPRTVKRGV
ENISVDIHCGEPLQIDHILVVFVHIGIPACDLRFRSIVQCVNDFRSVSLNLL
QTHFKKAQENQQIGRVEFLPNWHSPLHSTGVVDLQRIITLPSINRLRHFT
NDTILDVFFYNSPTYCQTIVDTVASEMNRITYTLFLQRNPDFKGGVSIAGHS
LGSILDFDILTQKDSLGDIDSEKDSLNI VMYQGDPTPLEEDLKKLQLESEF
FDIFEKEKVDKEALALCTDRDLQEIGIPLGPRKKILNYFSTRKNSMGIKRP
APQPASGANIPKESEFCSSSNTRNGDYL DVGIGQVSVKYPRLIYKPEIFFA
FGSPIGMFLTVRGLKRIDPNYRFPCTCKGFNIYHPFDPVAYRIEPMVVPGV
EFEPMLIPHHKGRKRMHLELREGLTRMSMDLKNLLGSLRMAWKSFTRAPY
PALQASETPPEETEAEPESTSEKPSDVNTEETSVAVKEEVLPINVGMLNGGQ
RIDYVLQEKPIESFNEYLFALQSHLCYWESEDTVLLVLKEIYQTQGIPLDQ
PLQ 711 COOH
```

多くの薬物はタンパク質の構造を少しだけ変化させる

ジアデノシン5リン酸はアデニル酸キナーゼの構造を変化させる



コンフォメーション病(フォールディング病)

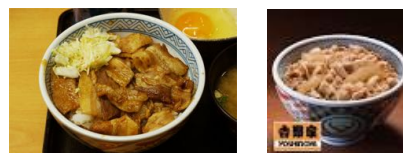
タンパク質が誤ったコンフォメーションをとることにより生じる病気

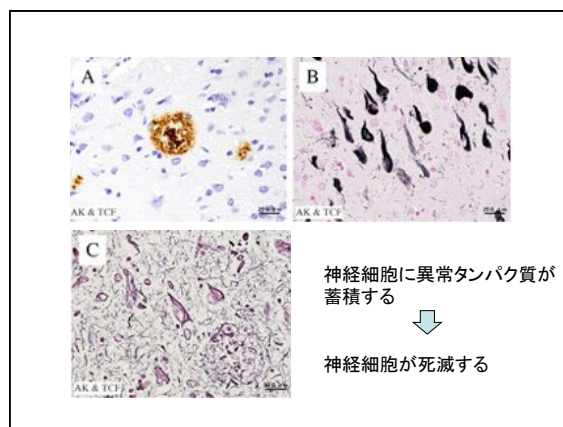
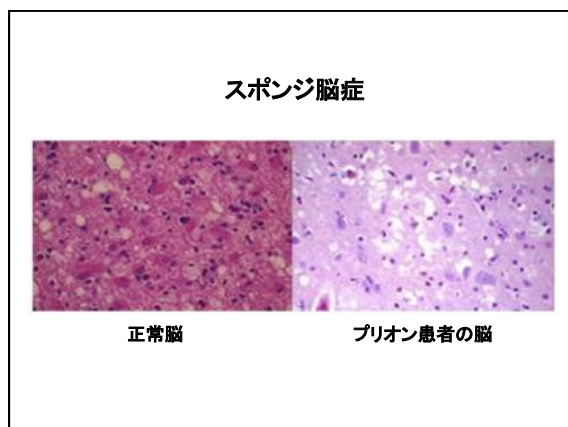
(例)  
アルツハイマー  
プリオン病

アミロイド(タンパク)が蓄積

(例)  
Aβタンパク質、プリオンタンパク質

豚丼がどうして誕生したか？





### 何故、コンホメーション病は神経系(脳)の病態が発生するのか？

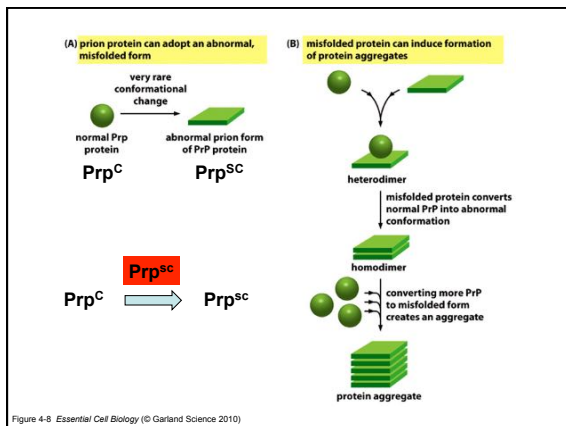
ヒト	孤発性プリオン病	クールー	バブアニューギニアの山岳地方の住民であるFore族の女性や子供を中心に見られた小脳性の歩行障害と振戦を特徴として、進行性に経過して発症後一年以内に死亡する疾患です。患者は突然死す。疫学も示さず。病理学的には小脳を中心に海綿状変性・アストログリアの増生、アミロイド斑がみられます。Fore族では女性や子供が死んだ人の眼球や脳を食べる儀式(カルバニズム)があったこと、また人肉を食べる習慣の消滅とともにこの疾病がなくなったことから、人肉を食べる習慣で発病したと考えられます。
	変異型クワイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD)	クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD)	世界各地で40-65歳の100万人につき約一人の頻度で見られます。痴呆やそれからくる症状を起こし、約一年で死亡します。これも脳に海綿状変性がみられます。疫学移転で感染したものは医原性ヤコブ病と呼ばれています。
		変異型クワイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD)	ヨーロッパで最近100名以上が罹患したCJD類似の疾患。CVJより若い人が罹患しています。発症すると数週間から数ヶ月で100%死亡しています。96年に英国で発生がはじめて確認された。BSEとの関連が疑われています。
	遺伝性プリオン病	致死性家族性不眠症	CJDやBSEとは別の病気で、米国コロラド州とワイオミング州で1980年代でみつかりました。イタリア系一家における常染色体優性遺伝性プリオン病です。
	ゲルスマン・ストロイスラー・シャインカー症候群(GSS)	常染色体優性遺伝の家族性プリオン病。進行は古典型CJDに比べ遅いのが一般です。発症年齢は40-60歳代ですが30歳代の発症もありました。	
ヒツジ	ヤギ	スクレイピー	鬃に体をこすりつける(scrapie)とことから名づけられました。英国や南ヨーロッパで18世紀ごろから知られている羊の病気で、刺激過敏、振戦、後肢の脱力が生じ、数ヶ月〜数年で死亡する病気です。日本でも、発病が確認されています。
ウシ		牛海綿状脳症(BSE)狂牛病	15年前に英国で確認されたウシのプリオン病。狂牛病はメデアがつけmad cow diseaseの和訳。正式にはウシ海綿状脳症[bovine spongiform encephalopathy: BSE]です。症状はスクレイピーに類似しています。英国をはじめヨーロッパ各地で100万頭以上のウシが感染し、18万頭がBSEにより死亡しました。感染経路は英国では屠乳期の牛乳に含有促進のために、ウシ肉のソウジの雑肉、骨などを飼料に混ぜる習慣があったためと考えられています。変異型クワイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)との関連が疑われています。日本では2001年9月に確認されています。
ネコ、トラ、ピューマ、チータ		猫海綿状脳症	

### プリオン病とプリオンタンパク(PrP)

- ・ **プリオンタンパク質(PrP)**が原因の発病に時間を要する伝染病
- ・ さまざまな病名
- ・ スクレイピー病原体が**プロテアーゼ感受性**であることから、プリオン病の原因はタンパク質であることが証明された。
- ・ プリオンは**種を超えて感染**する。
- ・ ヒツジPrP<sup>Sc</sup>を含む脳のホモゲネートをマウスに接種すると**潜伏期間約500日**でプリオン病を発症する。
- ・ このプリオン病を発症したマウスの脳のホモゲネートを別のマウスに接種すると、**潜伏期間75日**でプリオン病を発症する。

### プリオン病とプリオンタンパク(PrP)

- ・ プリオン病を起こす**PrP遺伝子の変異**が見つかった。
- ・ 変異プリオン遺伝子を導入したマウスは**高率でプリオン病**を引き起こす。
- ・ PrPノックアウトマウスは**プリオン病に耐性**である。
- ・ PrPは**正常型と異常型の二つの高次構造**をとる。
- ・ **PrP<sup>Sc</sup>がPrP<sup>C</sup> → PrP<sup>Sc</sup>の変換を自己触媒的に促進**する。
- ・ PrP<sup>Sc</sup>は**βシートが多く、コンパクトな構造**をとり、**凝集しやすい**。
- ・ プリオン病のメカニズムを発見した**ブルシナー博士**は、1997年に**ノーベル生理学・医学賞**を受賞した

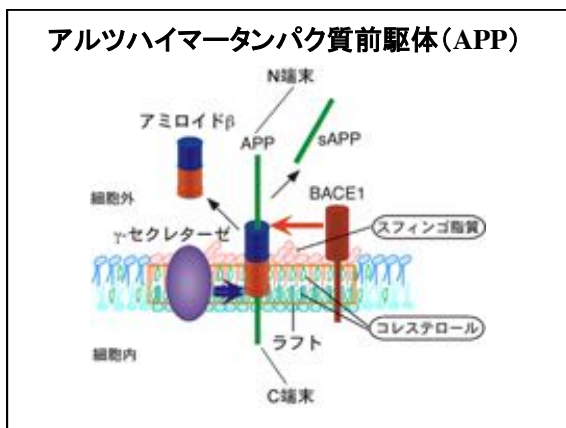
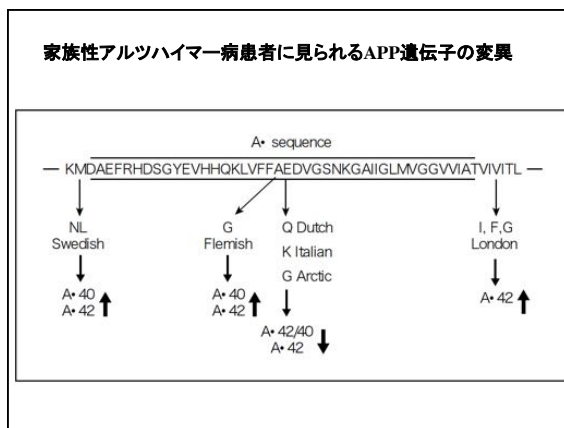
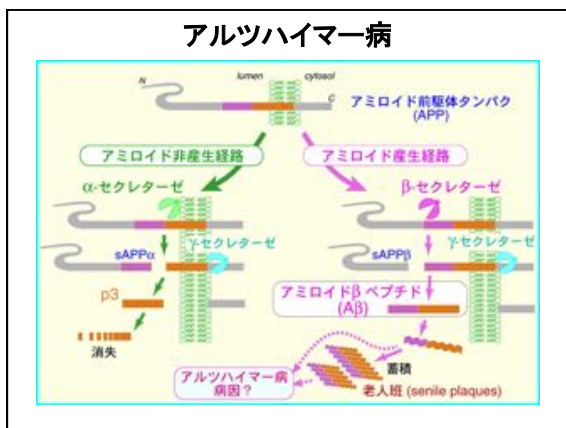


### プリオンは二種類の高次構造を取る

$\text{Prp}^C$   $\text{Prp}^{SC}$

$\alpha$ -ヘリックスが主体

$\alpha$ -ヘリックス、 $\beta$ -シートよりコンパクトで凝集しやすい

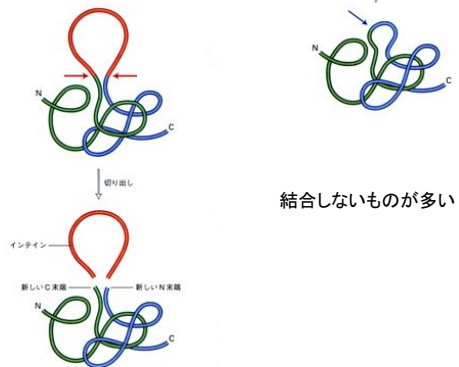


H27.5.11分

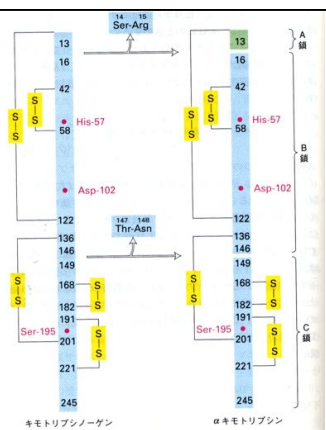
### タンパク質の翻訳後修飾

- ・ 切断、再結合
- ・ ジスルフィド結合
- ・ 分子の付加
  - リン酸化
  - アセチル化
  - ユビキチン化
  - 酸化
  - 糖鎖付加
  - 脂質付加など

### タンパク質のスプライシング



### タンパク質の修飾の例



### アセチル化

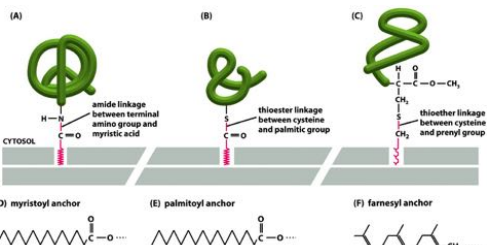
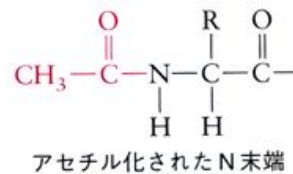
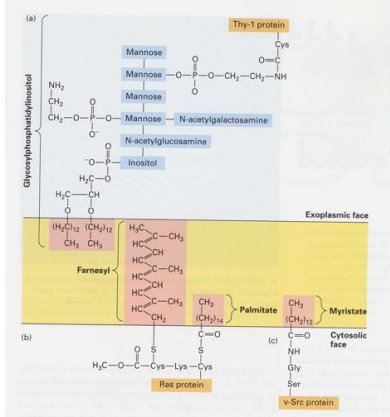
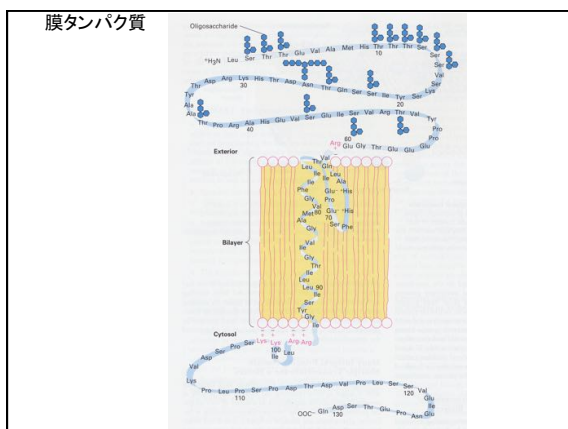


Figure 10-20 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

### タンパク質の脂質修飾



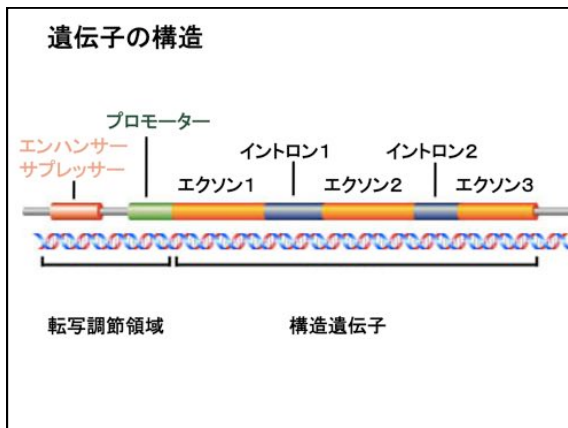
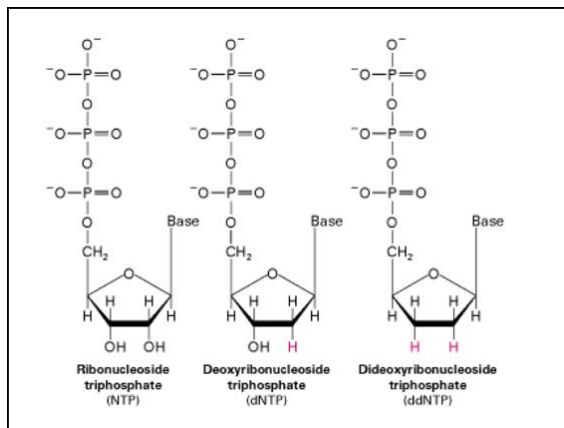


### タンパク質のアミノ酸の相同性

Protein	Accession	Length	Similarity
PLA1	U01481	356	100%
PLA2	U01482	356	100%
PLA3	U01483	356	100%
PLA4	U01484	356	100%
PLA5	U01485	356	100%
PLA6	U01486	356	100%
PLA7	U01487	356	100%
PLA8	U01488	356	100%
PLA9	U01489	356	100%
PLA10	U01490	356	100%
PLA11	U01491	356	100%
PLA12	U01492	356	100%
PLA13	U01493	356	100%
PLA14	U01494	356	100%
PLA15	U01495	356	100%
PLA16	U01496	356	100%
PLA17	U01497	356	100%
PLA18	U01498	356	100%
PLA19	U01499	356	100%
PLA20	U01500	356	100%

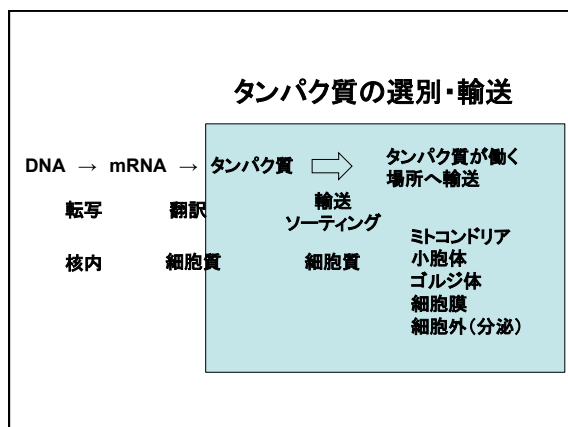
Loop

Lid domain



H27.5.18分





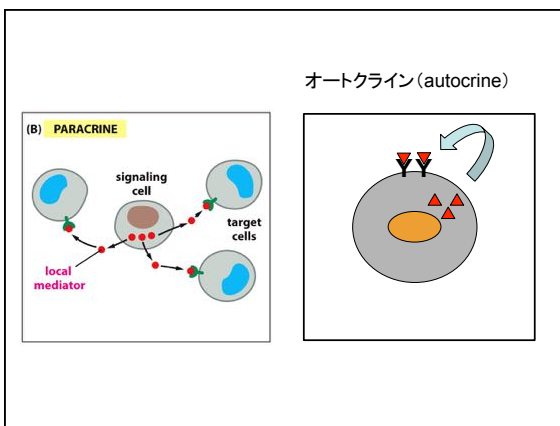
2013年のノーベル医学生理学  
細胞内輸送のメカニズム解明

ロスマン シェクマン ジュートホフ

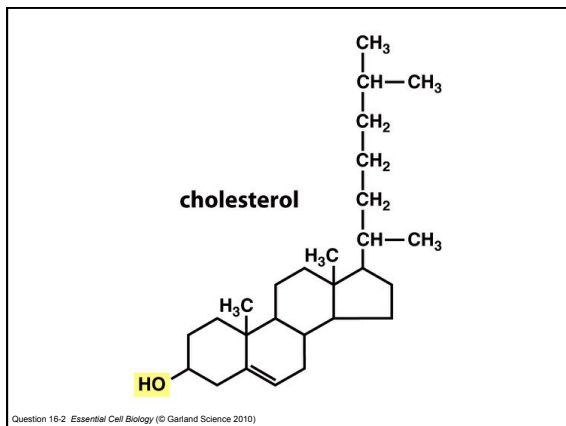
H27.5.25分

## シグナル伝達と受容体

- ### 受容体の分類
- ・ 作用機構による分類
  - ・ 構造による分類
  - ・ リガンドによる分類







**受容体の分類**

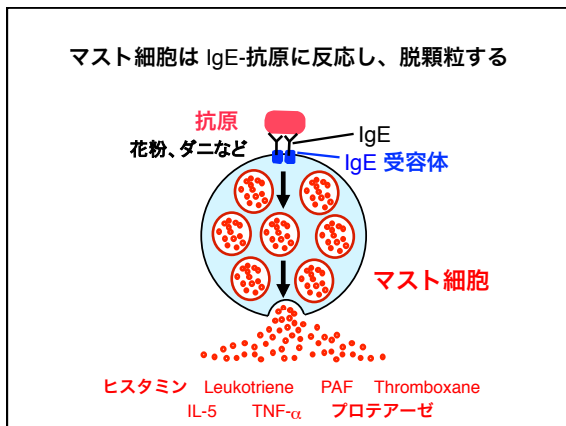
- ・ 作用機構による分類
- ・ 構造による分類
- ・ リガンドによる分類

**ヒスタミン (Histamine)**

- ・ ヒステジン脱炭酸酵素によりヒステジンから合成される
- ・ H1-H4のGPCR型受容体を介し作用を発揮する
- ・ 血圧降下、血管透過性亢進、平滑筋収縮、血管拡張、腺分泌促進などの薬理作用があり、アレルギー反応、炎症の発現

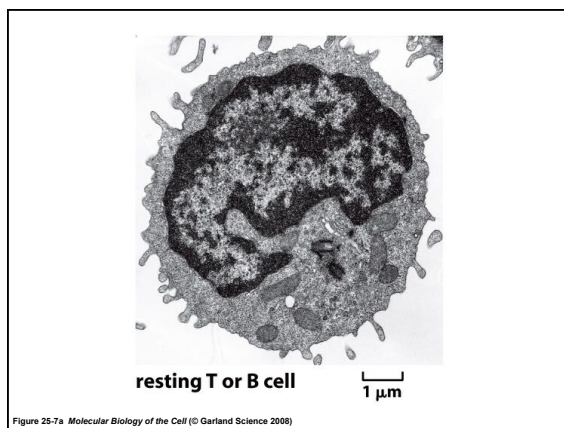
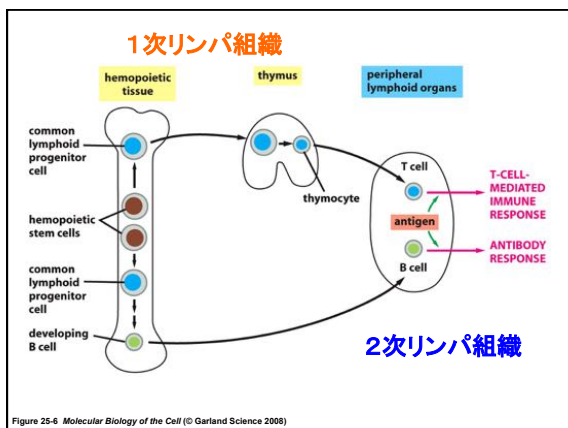
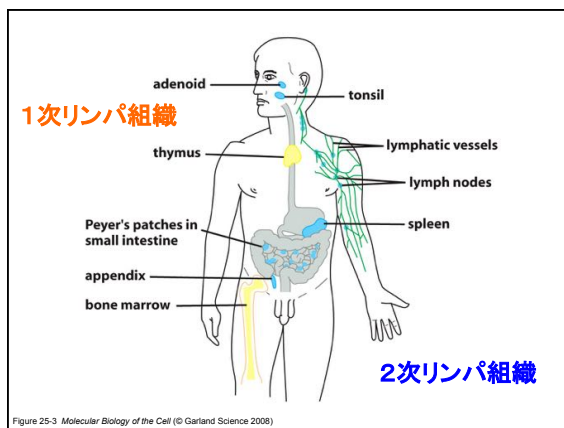
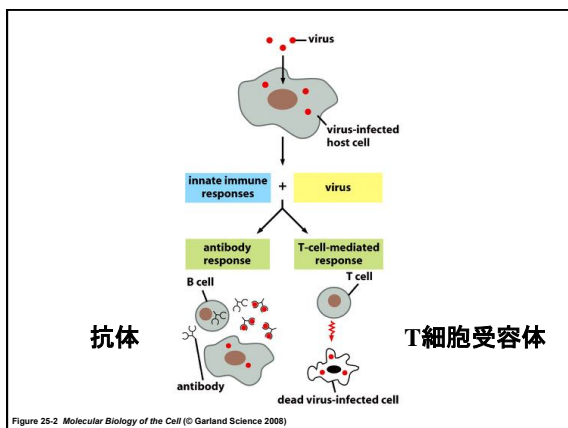
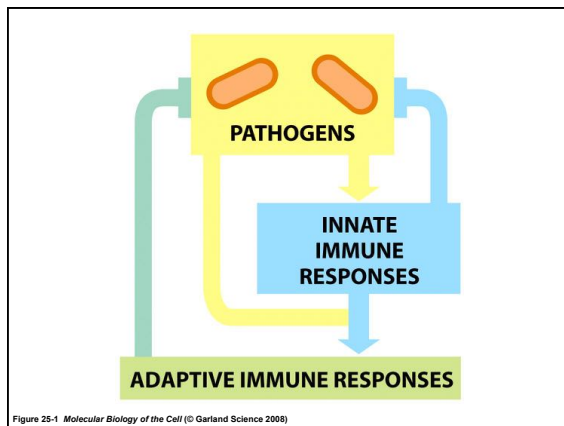
**マスト(肥満)細胞**

<p>メディエーター</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ ヒスタミン</li> <li>・ LTC4, LTD4</li> <li>・ TXA2</li> <li>・ PGD2</li> <li>・ プロテアーゼ</li> <li>・ IL-5</li> <li>・ TNF-α</li> </ul>	<p>存在部位</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 粘膜</li> <li>・ 皮膚</li> <li>・ 腸管</li> <li>・ 血管周囲</li> </ul> <p>関連病態</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 蕁麻疹</li> <li>・ 喘息</li> <li>・ 花粉症</li> <li>・ アトピー性皮膚炎</li> </ul>
---	---



**H27.6.1分**

# 免疫と抗体



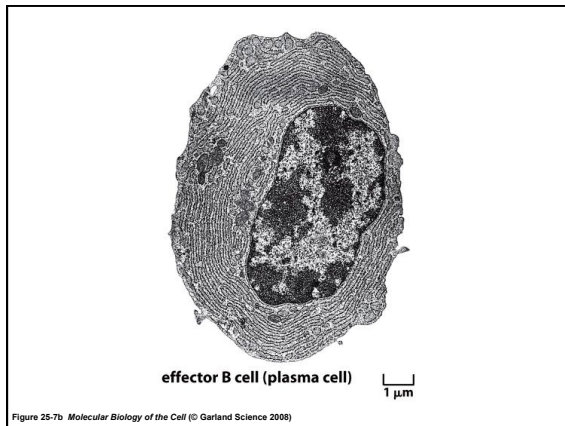


Figure 25-7b. Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

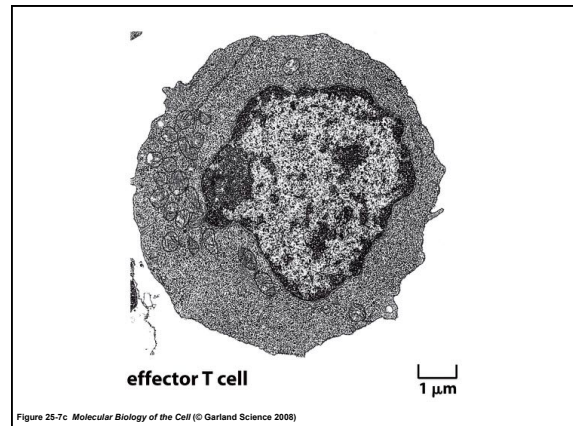


Figure 25-7c. Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

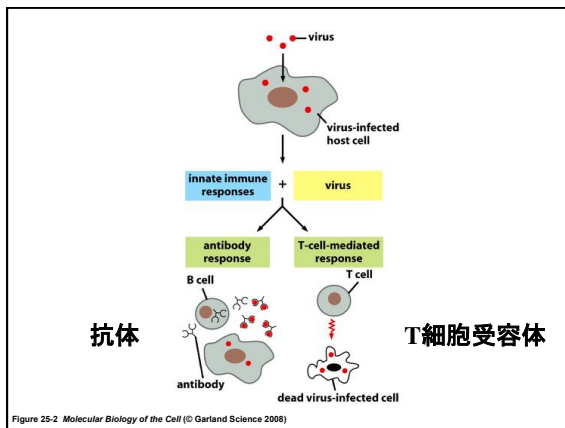


Figure 25-2. Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

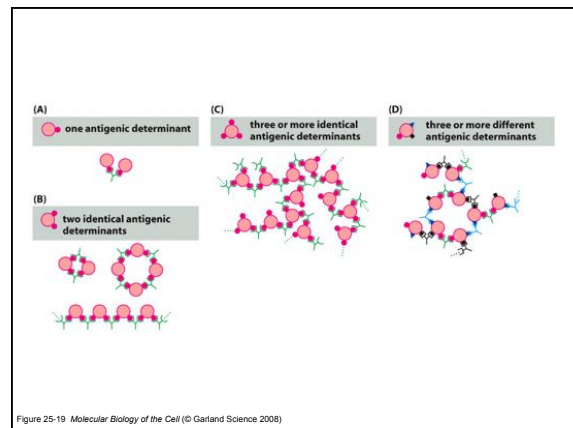


Figure 25-19. Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

### 抗体の子クラス

Table 25-1 Properties of the Major Classes of Antibodies in Humans

PROPERTIES	CLASS OF ANTIBODY				
	IgM	IgD	IgG	IgA	IgE
Heavy chains	μ	δ	γ	α	ε
Light chains	κ or λ	κ or λ	κ or λ	κ or λ	κ or λ
Number of four-chain units	5	1	1	1 or 2	1
Percentage of total Ig in blood	10	<1	75	15	<1
Activates complement	++++	-	++	-	-
Crosses placenta	-	-	+	-	-
Binds to macrophages and neutrophils	-	-	+	-	-
Binds to mast cells and basophils	-	-	-	-	+

Table 25-1. Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

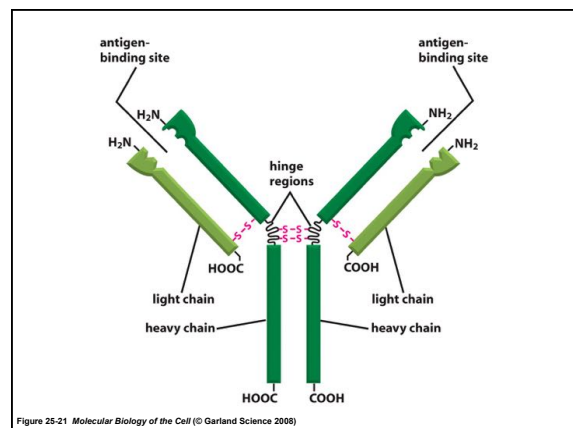
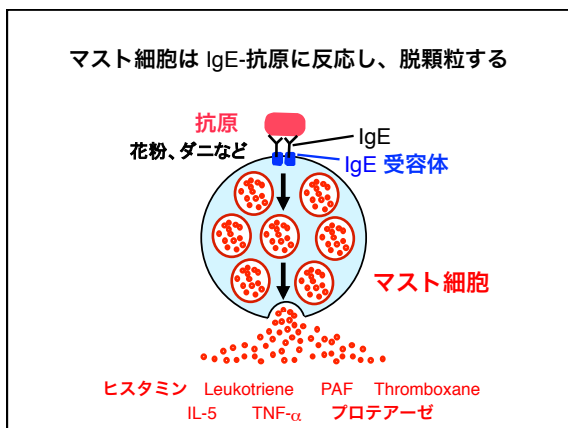
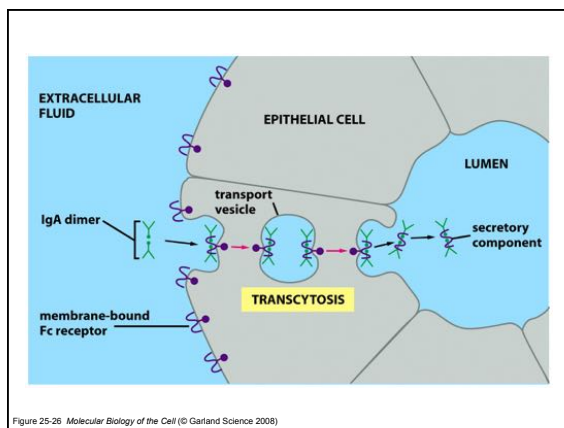
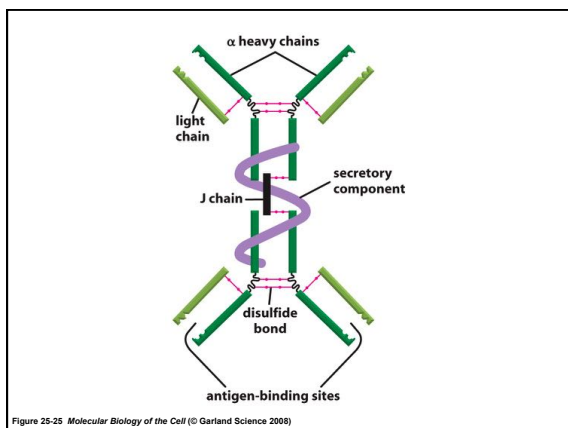
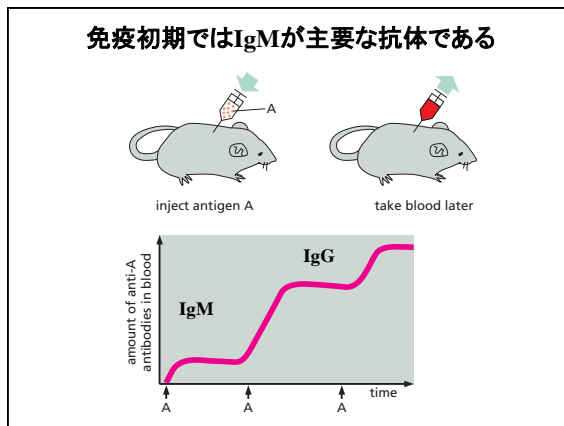
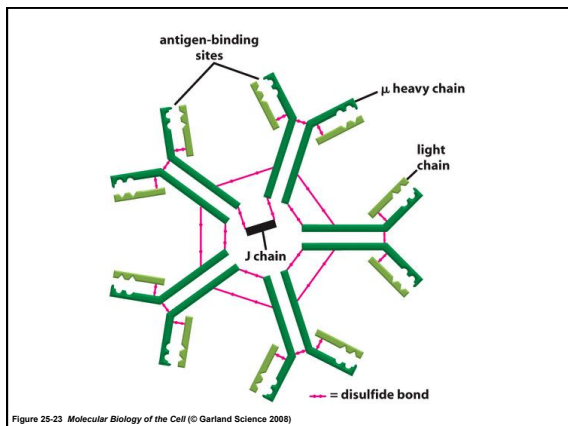


Figure 25-21. Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)



### 化合物薬と抗体医薬の比較

	化合物薬	抗体医薬
分子量	300-600 Da	150,000 Da
標的分子	GPCR, 酵素, イオンチャンネル等	ほぼすべての標的
異なる2つの標的スクリーニング	困難	十分に可能
親和性、特異性	ランダムスクリーニング	mAbの作製、ヒト化
エフェクター機能	中程度	極めて高い
安全性	なし	細胞障害活性
半減期	副作用のリスク	極めて高い
他薬物との相互作用	数〜数十時間	数週間
製造コスト等	あり	なし
薬価	安い	高い
臨床試験	安い	高い
投与経路	見通しが立ち難い	比較的容易
	経口投与	注射剤

### 作用メカニズム

**中和作用**

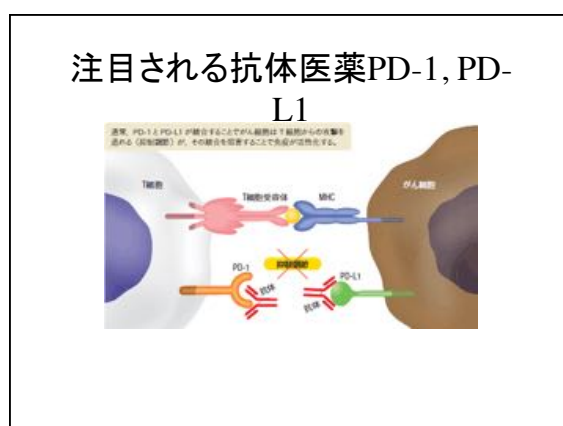
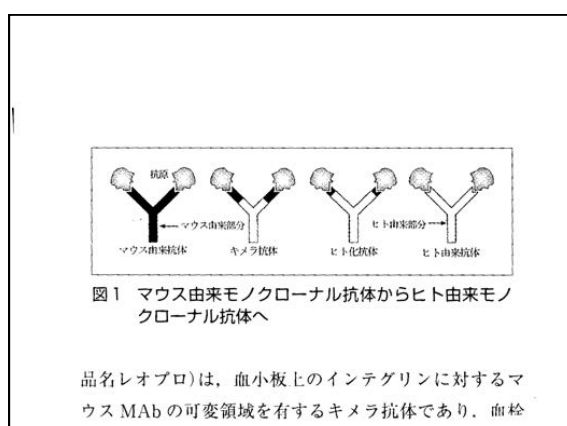
**ADCC (Antibody-Dependent-Cellular-Cytotoxicity) : 抗体依存性細胞傷害活性**

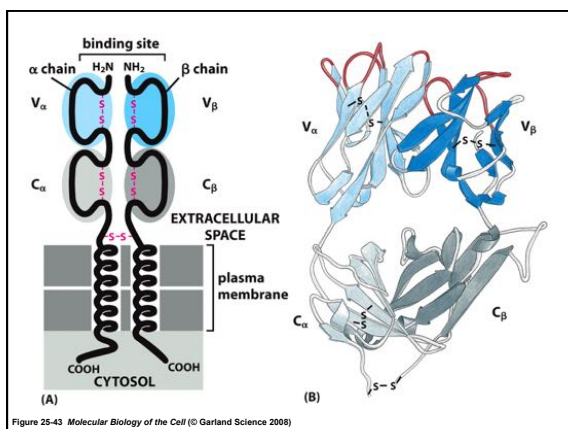
**CDC (Complement-Dependent Cytotoxicity) : 補体依存性細胞傷害活性**

- ### 標的疾患
- がん
  - アレルギー
  - 感染症

表2 市販されている抗体薬及び臨床開発中の抗体薬の例

抗体薬	抗体の構造	抗体の標的抗原	主な治療疾患
新薬承認抗体薬			
ムロキマブ/CD3	マウス型 IgG2a	Tリンパ球のCD3抗原	移植拒絶反応
アブシキマブ	キメラ IgG1 の Fab 断片	インターフェロン-β	心臓病など自己免疫疾患
ダリズマブ	ヒト IgG1	IL-2 受容体 α 鎖 (CD 25)	移植拒絶反応
リクシマブ	キメラ IgG1	Bリンパ球の CD 20 抗原	非ホジキンリンパ腫
パリトシマブ	キメラ IgG1	IL-2 受容体 β 鎖 (CD 25)	移植拒絶反応
パロシマブ	ヒト IgG1	RSV タリムス	RSV ウイルス感染症
インフリキシマブ	キメラ IgG1	炎症性サイトカイン TNF α	慢性リウマチ関節炎
トラスツマブ	ヒト IgG1	T 産増殖因子受容体 HER 2	乳がん
イブリアマブ/マブチチキセタン	マウス型 IgG1 上放射線同位元素 Y	Bリンパ球の CD 20 抗原	非ホジキンリンパ腫
ゲムタズマブ/オゾメシチン	ヒト IgG4 糖鎖毒	CD 33 抗原	急性骨髄性白血病
アレムズマブ	ヒト IgG1	CD 52 抗原	慢性リンパ性白血病
アサリムマブ	ヒト型 (ワージ) IgG1	炎症性サイトカイン TNF α	慢性リウマチ関節炎
オマリズマブ	ヒト IgE	IgE	喘息
トシキマブ/1	マウス型 IgG2a	Bリンパ球の CD 20 抗原	非ホジキンリンパ腫
エファリズマブ	ヒト IgG1	CD 11a (LFA 1 の α 鎖)	皮膚病
ベリズマブ	ヒト IgG1	血管新生抑制因子 VEGF	大腸がん
セツキマブ	キメラ IgG1	上皮増殖因子受容体 EGFR	大腸がん
トシズマブ	ヒト IgG1	IL-6 受容体	キャスルマン病
ブーネ量の治療抗体薬			
ベタセキマブ	ヒト IgG1	補体 C5	心臓病、虚血性脳卒中
エフツマブ	ヒト IgG1	Bリンパ球の CD 22 抗原	全身性エリテマトーデス
モタボマブ	ヒト IgG1	RSV タリムス	RSV 感染症
ニモズマブ	ヒト IgG1	EGF 受容体	腫瘍化学療法
ラニズマブ	ヒト IgG1 の Fab	VEGF	加齢性黄斑変性症
イビムマブ	ヒト IgG1	Tリンパ球の CTLA 4	急性骨髄性白血病
キアラズマブ	ヒト IgG1	Bリンパ球の CD 20 抗原	関節リウマチ
パニムマブ	ヒト IgG1	EGF 受容体	大腸がん、非小細胞肺癌
CDP 820	ヒト Fab Fcγ 付加	TNF α	関節リウマチ
ラウリトマブ	ヒト IgG1 (ワージ)	TGF β2	結核性肺病治療
ABX 105	ヒト IgG1	IL-6	乾癬、COPD
XTI 001	ヒト IgG1	2 種の合剤	自己免疫性炎症性腸炎
Aumgraib	ヒト型 scFv	黄色ブドウ球菌	メチシリン耐性菌感染症





### モノクローナル抗体を作る

- 細胞融合法
- ファージディスプレイ法

### モノクローナル抗体とポリクローナル抗体

1つのB細胞は一種類の抗体を作る

FUSE ANTIBODY-SECRETING B CELL WITH TUMOR CELL

Hybrid cell makes anti-A antibody and divides indefinitely.

Inject mouse with protein X

Mutant mouse myeloma cells suitable to grow in HAT

Mouse spleen cells; some cells (red) make antibody to X

Mix and fuse cells

Transfer to HAT medium

Unfused cells (O) die

Fused cells (O ⊕) grow

Culture single cells in separate wells

Test each well for antibody to protein X

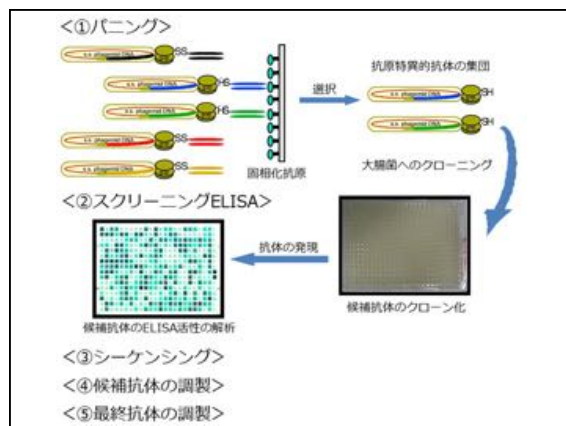
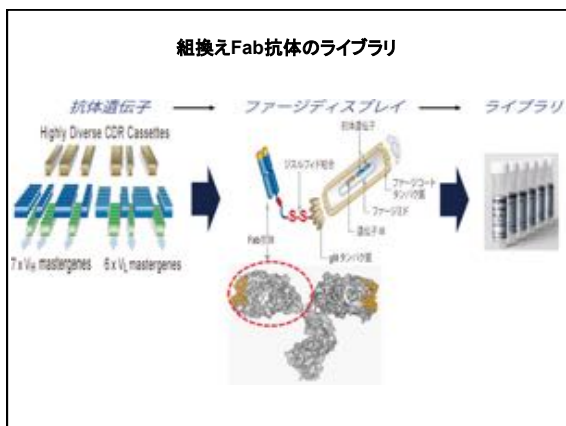
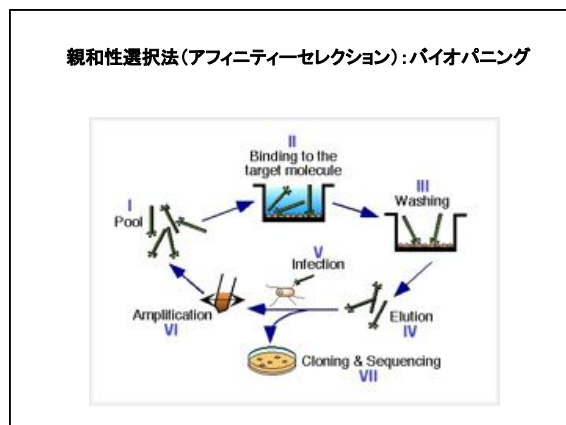
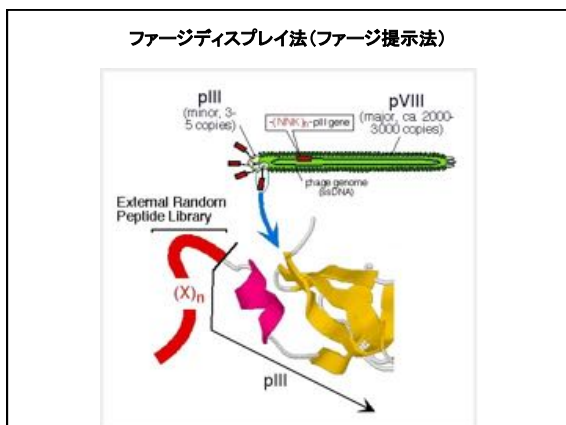
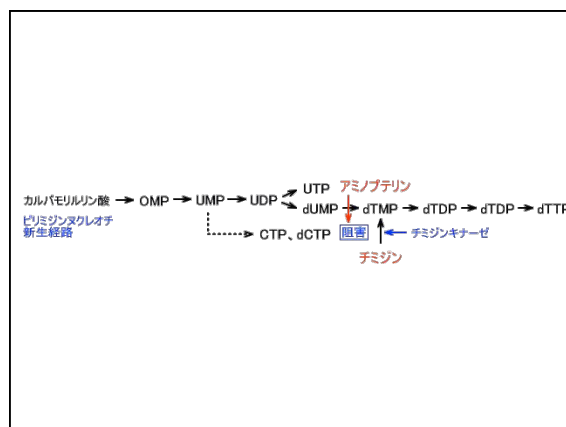
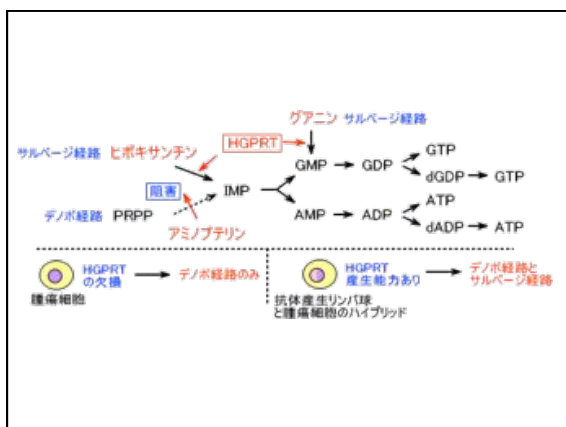
抗体産生細胞 腫瘍細胞

PEG or 電気刺激

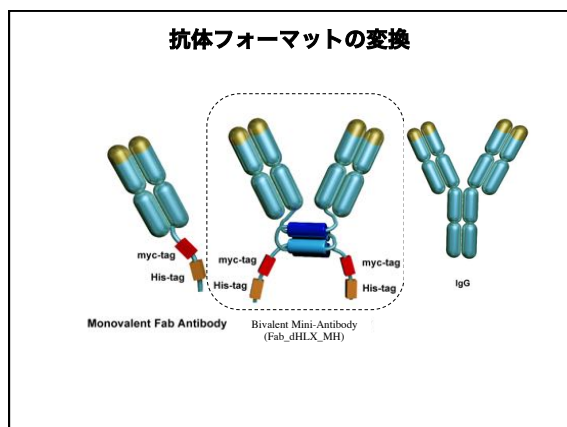
- 腫瘍細胞のみ
- 腫瘍細胞同士
- 抗体産生細胞 + 腫瘍細胞
- 抗体産生細胞同士
- 抗体産生細胞のみ

この細胞のみを選択する









H27.6.8, 15分

タンパク質を解析する

⇒ 我々は何が知りたいのか？

知りたい内容によって手法が異なる

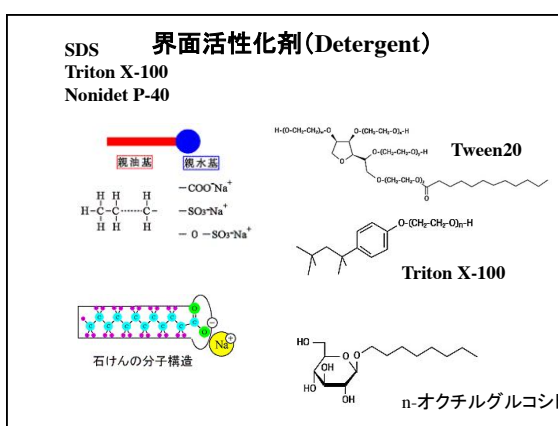
- ・ タンパク質の1次構造が知りたい
- ・ タンパク質の高次構造が知りたい
- ・ タンパク質を精製したい
- ・ タンパク質がどこに(組織レベル・細胞レベル)発現しているか知りたい
- ・ タンパク質の機能・働きを知りたい
- ・ タンパク質を大量に得たい

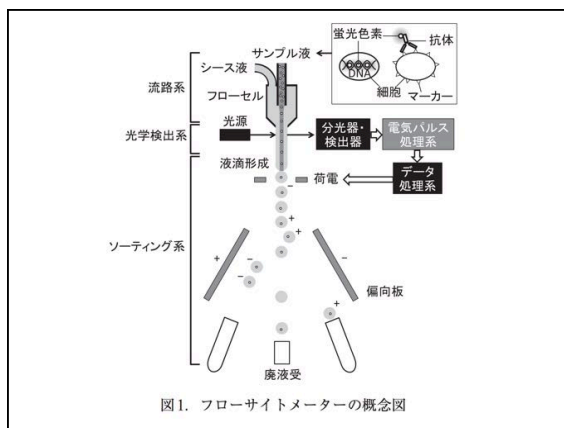
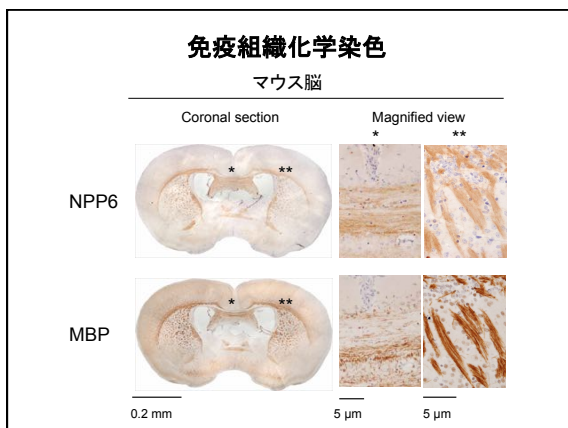
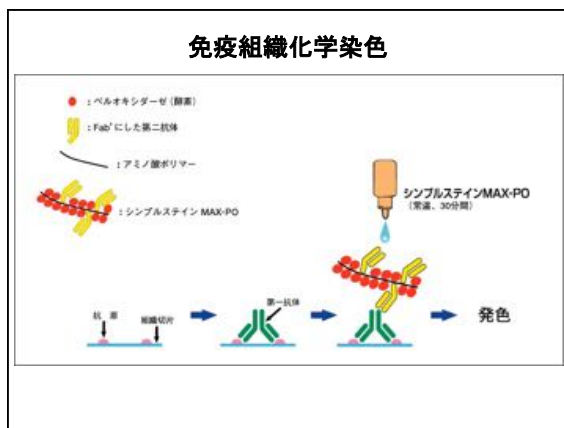
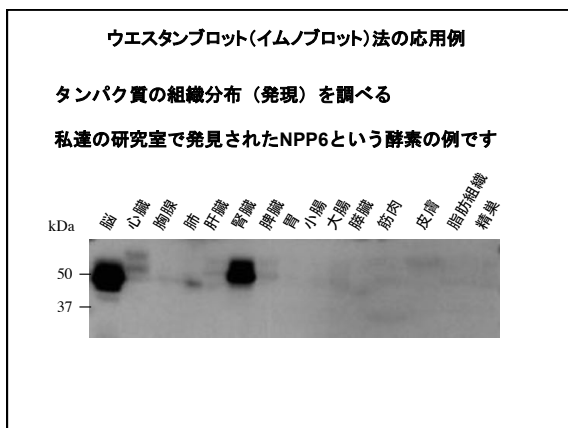
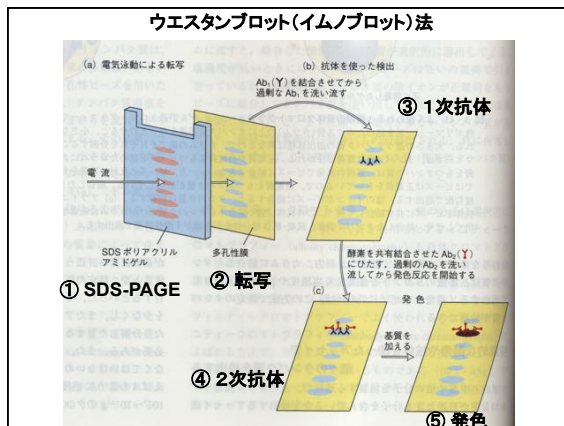
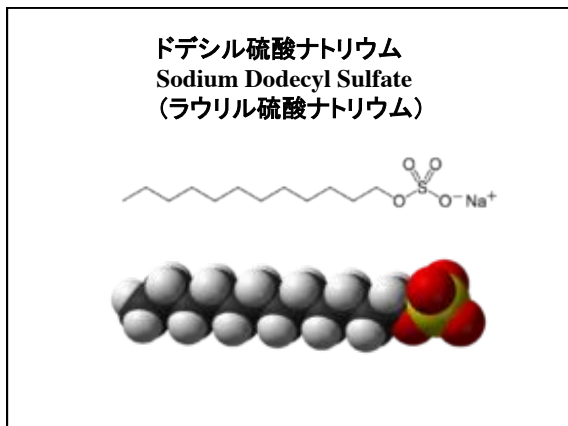
タンパク質を解析する手法

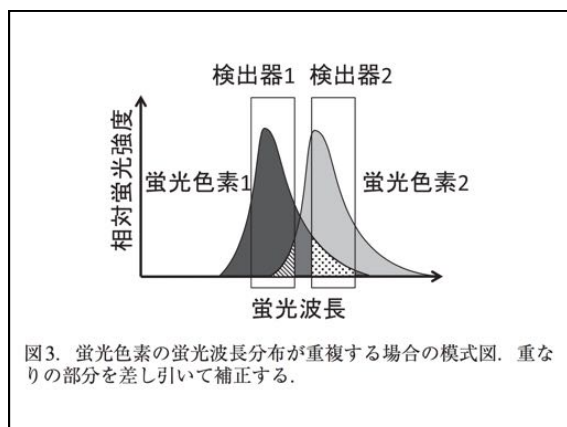
**SDS-PAGE**  
(SDSポリアクリルアミド電気泳動)  
等電点電気泳動

Western blot (ウエスタンブロット)

免疫組織染色・フローサイトメトリー

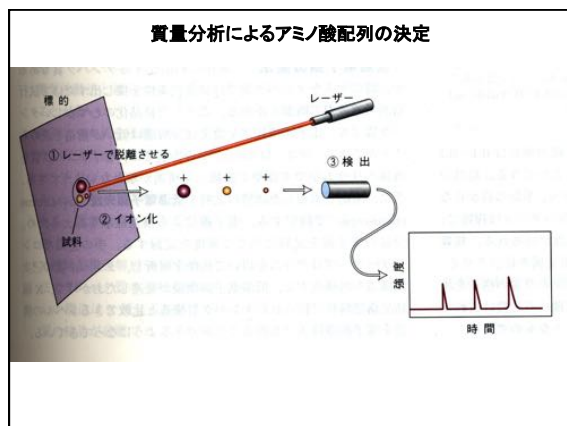
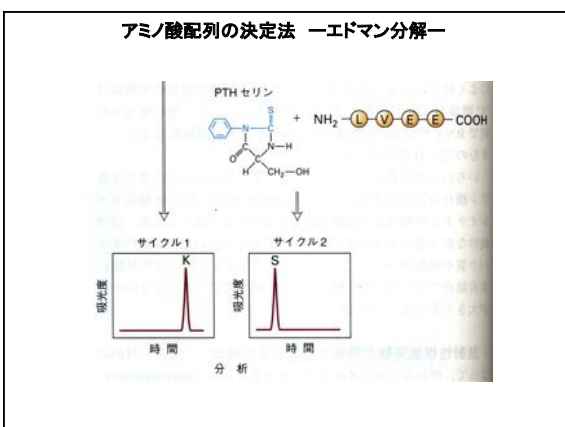
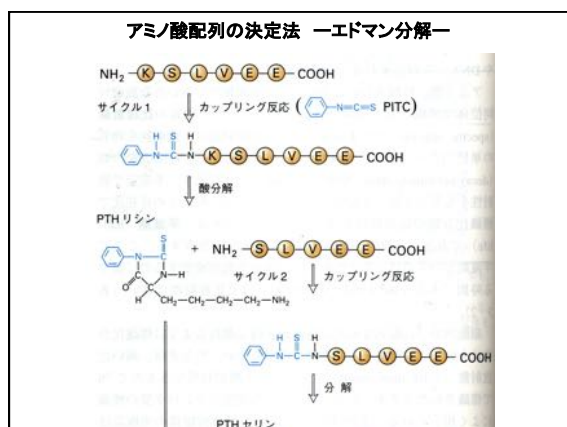






タンパク質を解析する手法

- ・ エドマン分解・質量分析法
- ・ X線構造解析・NMR



H27.6.29, 7.6分

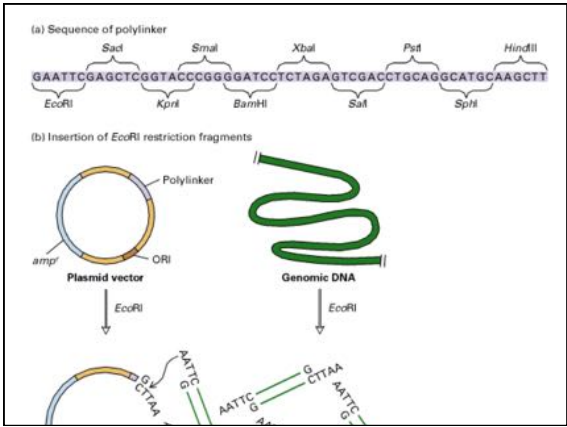
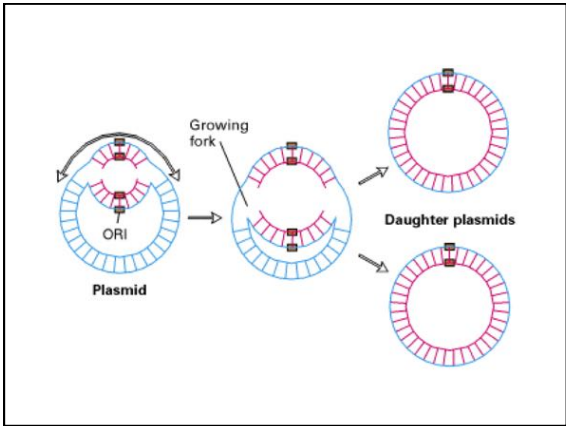
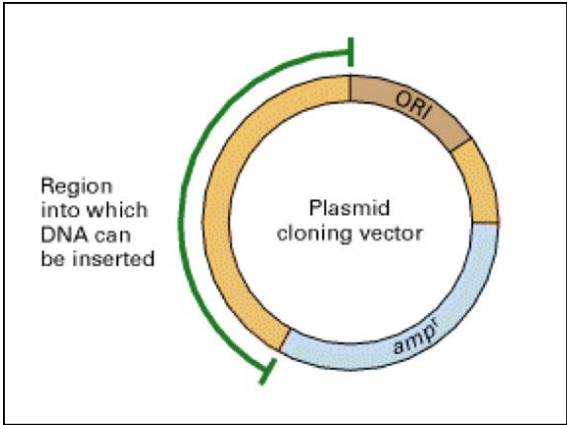
## タンパク質を操る遺伝子操作

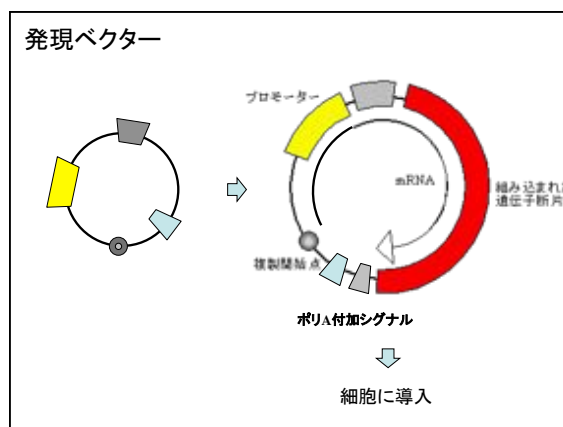
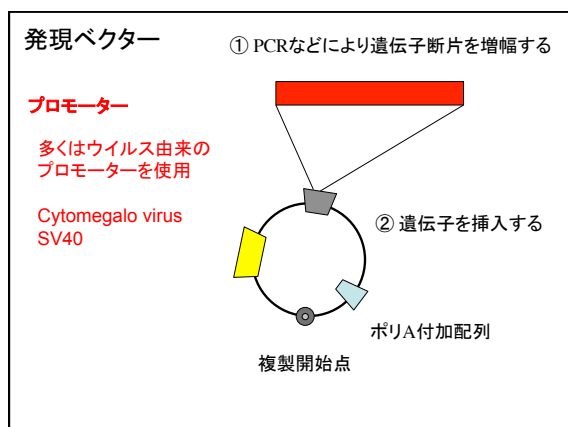
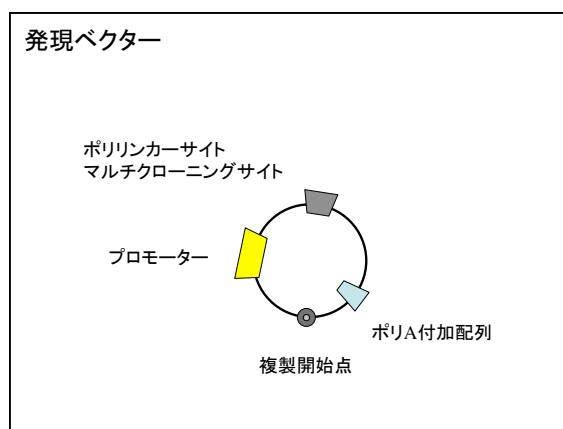
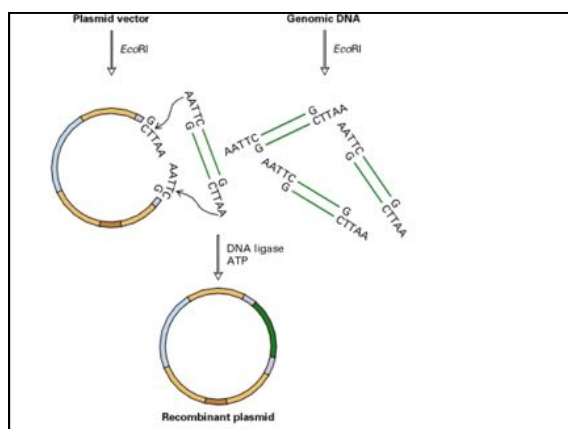
- ### タンパク質を操る遺伝子操作で何ができるか
- ・ タンパク質を細胞や動物個体に作らせることができる
    - リコンビナントタンパク質
    - タンパク質発現細胞の作製
    - トランスジェニック動物の作製
  - ・ 動物個体でタンパク質がどこに存在するか調べることができる
  - ・ タンパク質に任意の変異を導入することができる
  - ・ 遺伝子ノックアウト細胞、動物を作製することができる

### タンパク質を細胞や動物に発現させる

**例1**  
ある受容体GPCRに対する作動薬を見つけるために、細胞に受容体を発現させる。

**例2**  
ある酵素を発現させ、その酵素のX線構造を決定する

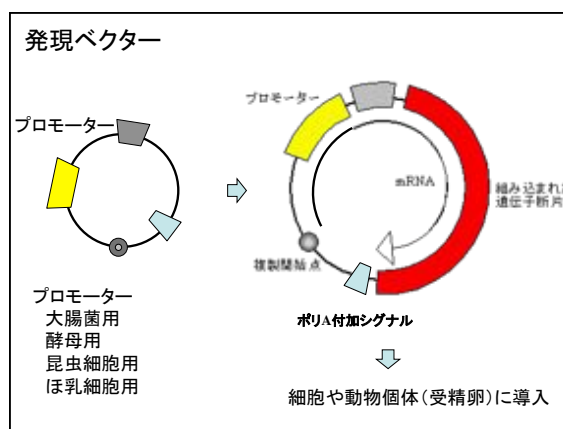




**PCR: Polymerase Chain Reaction**

**RT-PCR: Reverse Transcriptase PCR**

- 組織・細胞中のmRNAを簡単にcDNAに変換することができる
- 組織・細胞中のmRNAを定量できる



### タンパク質を発現させる宿主(ホスト)とタンパク質修飾

大腸菌	タンパク質の翻訳後修飾は極めて少ない リン酸化×、糖鎖付加×
酵母	タンパク質の翻訳後修飾は少ない
昆虫細胞	糖鎖が短い
ほ乳細胞	生体内と同じ修飾が期待できる
無細胞系	コムギ胚芽等の利用

### タンパク質を発現させる宿主(ホスト)と利点

大腸菌	操作が単純、早い、 タンパク質が大量に得られる
酵母	比較的手軽、強固の細胞壁を 破壊する必要がある
昆虫細胞	ウイルス(バキュロウイルス)を用いる 糖鎖が短く均一である。
ほ乳細胞	時間がかかる、高価、少量
無細胞系	試験管内で合成できる

- ① 受容体発現細胞、組織からRNAを調整する
- ② 逆転写酵素をもちいたPCR反応(RT-PCR)で受容体cDNAを増幅する
- ③ 増幅したcDNAを発現ベクターに挿入する
- ④ 発現ベクターを細胞あるいは動物個体に導入し、目的タンパク質を安定に発現する細胞、動物個体を選別する

受容体の場合

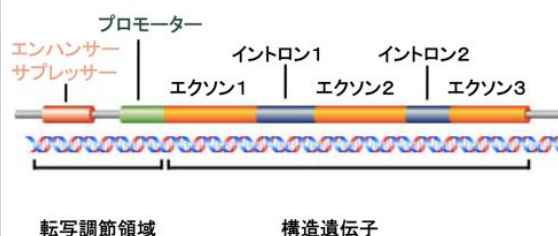
- ⑤ 受容体発現細胞を用い、作動薬としての活性を有する化合物を探索する

- ① 受容体発現細胞、組織からRNAを調整する
- ② 逆転写酵素をもちいたPCR反応(RT-PCR)で受容体cDNAを増幅する
- ③ 増幅したcDNAを発現ベクターに挿入する
- ④ 発現ベクターを細胞あるいは動物個体に導入し、目的タンパク質を安定に発現する細胞、動物個体を選別する

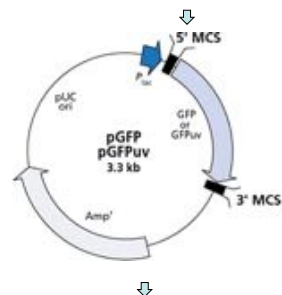
酵素の場合

- ⑤ 酵素発現細胞、動物からリコンビナント酵素を精製する  
さらにタンパク質結晶を調整し、X線構造解析を行う

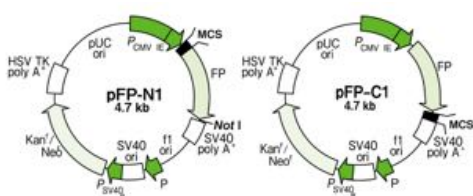
### 遺伝子の構造



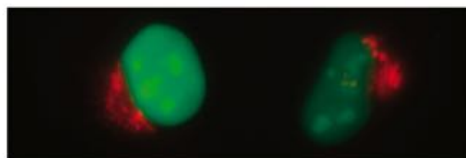
ここに遺伝子のプロモーターを挿入する



蛍光タンパク質 (GFPなど) との融合タンパク質を発現させる

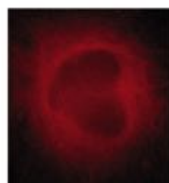


蛍光タンパク質 (GFPなど) との融合タンパク質を発現させる



タンパク質がゴルジ体に局在することがわかる

蛍光タンパク質 (GFPなど) との融合タンパク質を発現させる



チューブリンタンパク質をmCherry (赤色蛍光を発する) との融合タンパク質として発現、微小管を可視化できる。

#### DNA分子の変性と再生を利用した手法

- ・ ノーザンプロットング  
mRNAを検出
- ・ サザンプロットング  
DNAを検出
- ・ *in situ* ハイブリダイゼーション  
mRNAやDNAを検出  
顕微鏡技術と組み合わせる

## RNA i (RNA interference)

#### RNAiとは？

RNAi(RNA interference)とは、ある遺伝子と相同な、センスRNAとアンチセンスRNAからなる二本鎖RNA(double-strand RNA; dsRNA)が、その遺伝子の転写産物(mRNA)の相同部分を破壊する、という現象で、1998年に線虫を使用した実験によりはじめて提唱されました。

(Fire A, et al: Nature(1998)391:806-811)

RNAiは発見された当初、哺乳動物細胞においては、約30bp以上のdsRNAを細胞内へ導入すると、細胞が本来持っている免疫機能によりアポトーシスを起こし、細胞が死んでしまう為、哺乳動物細胞での利用は困難と思われていました。

しかし、2000年に、マウス初期胚や哺乳動物培養細胞でもRNAiが起り得ることが示され、RNAiの誘導機構そのものは、哺乳動物細胞にも存在することがわかってきました。

(Ui-Tei K, et al: FEBS Lett(2000) 479: 79-82)

2001年、さらに短い(21~23bp)のdsRNA(small interfering RNA; siRNA)が、哺乳動物細胞系でも細胞毒性を示さずにRNAiを誘導できることが示されました。(Elbashir SM, et al: Nature(2001)

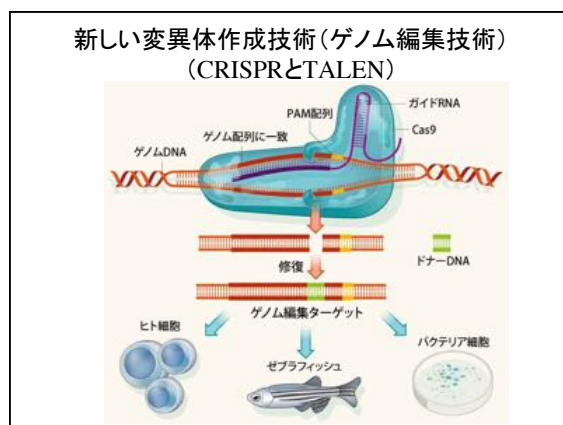
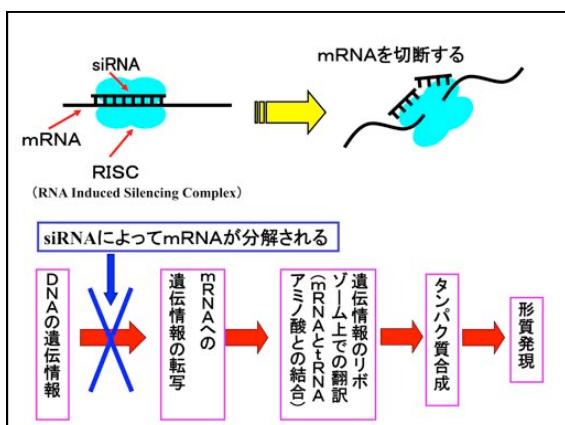
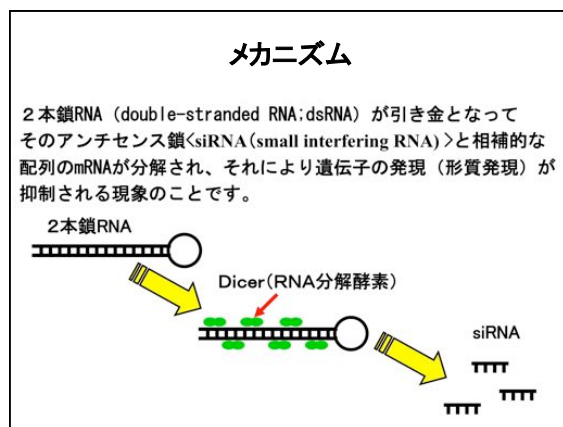


現在は27bpのsiRNAの方がより効果的であるとの発表もされています。

従来の遺伝子機能解析は、ある表現型に関わる遺伝子をクローニングし、塩基配列を調べる、といった手順で進められていました。しかし、ヒトを含めたいくつかの生物でその全塩基配列が決定されている現在(ポストゲノム時代)、決定された遺伝子の塩基配列からその機能を解析するようになってきました。

RNAiは配列が知られている標的遺伝子のmRNAをノックアウト(破壊)することによりその遺伝子の機能を探索することができる画期的な方法です。

RNAi法のその他の利点として、低濃度でも効果が期待でき、mRNAを破壊するだけである為、ゲノム遺伝子には影響を及ぼさない、ことが挙げられます。



### タンパク質の機能と名前(総称)を覚えよう

<b>酵素</b> キナーゼ、プロテアーゼ、ヌクレアーゼ、グリコシダーゼ	<b>貯蔵(栄養)タンパク質</b> カゼイン、オバルミン
<b>構造タンパク質</b> コラーゲン、フィブロネクチン、エラスチン、ケラチン、アクチン、チューブリン	<b>受容体</b> GPCR、チロシンキナーゼ型受容体
<b>輸送タンパク質</b> アルブミン、ヘモグロビン	<b>シグナルタンパク質</b> ホルモン、成長因子、毒素
<b>モータータンパク質</b> ミオシン、ダイニン、キネシン	<b>遺伝子制御タンパク質</b> 転写因子
	<b>特別なタンパク質</b> 抗体、T細胞受容体、接着因子

### 細胞内構造(細胞骨格)タンパク質

	構成タンパク質	安定性	モータータンパク質
アクチン	アクチン	動的	ミオシン
微小管	チューブリン	動的	ダイニン キネシン
中間径フィラメント	ケラチン ビメンチン ニューロフィラメント 核ラミン	静的	無