

# RNA Interference and Gene Silencing: History and Overview

Post-transcriptional gene silencing (PTGS)은 *petunias*를 비롯한 몇몇의 식물종에서 나타나고 있는 희귀한 현상이며, 현재 분자생물학분야에서 최고의 issue 중 하나로 대두되고 있다. 지난 몇 년 동안에 PTGS는 식물과 동물에서 발생하는 현상으로 생물체의 방어기작과 transposon silencing 기작에서 나타나는 것으로 알려졌다. 그러나 가장 흥미로운 것은 최근에 *petunias*에서 PTGS와 RNA interference (RNAi)- double stranded RNA (dsRNA)를 도입함으로써 PTGS 개시됨-가 다양한 생물체에서 특정 유전자의 expression을 knock out하는 tool로서 이용되고 있는 것이다.

## RNA interference (RNAi)의 기작

긴 서열의 double-strand RNAs (dsRNAs; 일반적으로 200 nt 이상)는 생물체나 각종 cell type (예, worms, fruit flies and plants)에서 목적 유전자의 발현을 억제하여 그 기능을 상실시키는데 이용될 수 있다.

이렇게 긴 서열의 dsRNAs는 cellular pathway를 통해 작용하게 되는데 이를 일반적으로 RNA interference (RNAi) pathway라고 하며, 다음과 같은 경로로 진행된다. 첫째, dsRNAs는 Dicer (initiation step)라 불리는 RNase III에 의해 20~25 nucleotides (nt)의 small interfering RNAs (siRNAs)로 분해된다. 그리고 siRNAs는 RNA-induced silencing complexes (RISCs)로 알려진 endoribonuclease-containing complexes와 결합한다. 그 후 siRNA strands는 활성화된 RISCs의 형태로 풀리게 되어, RNA 분자와 RISCs는 상보적인 부분에 반응이 일어나 분해가 되고 동종의 RNA를 파괴하게 된다 (effector step). 동종 RNA의 분해는 siRNA 서열의 중앙지역에 binding되어 일어난다(그림 1).

포유동물의 세포에서 긴 서열의 dsRNA (>30 nt)의 도입은 antiviral response에 의해 시작되며, 이것은 단백질의 합성과 RNA 분해라는 비특이적인 저해현상으로 증명되었다.

## RNAi에 의한 gene specific silencing

RNA interference (RNAi)는 몇몇의 생물체나 세포 types에서 double-stranded RNA (dsRNA)가 도입되어 상동성 있는 mRNA를 분해하는 현상이다 (그림 2; step 1). 세포안에서 긴 서열의 dsRNAs은 짧은 21-25 nucleotides의 small interfering RNAs로 분해되거나 Dicer로 알려진 ribonuclease에 의해 siRNAs로 된다 (step 2). 그리고 나서 siRNA는 protein components와 결합하여 RNA-induced silencing complex (RISC)를 만든다. 그 후 siRNA가 풀리면서 ATP가 발생하여 RISC는 활성화되며

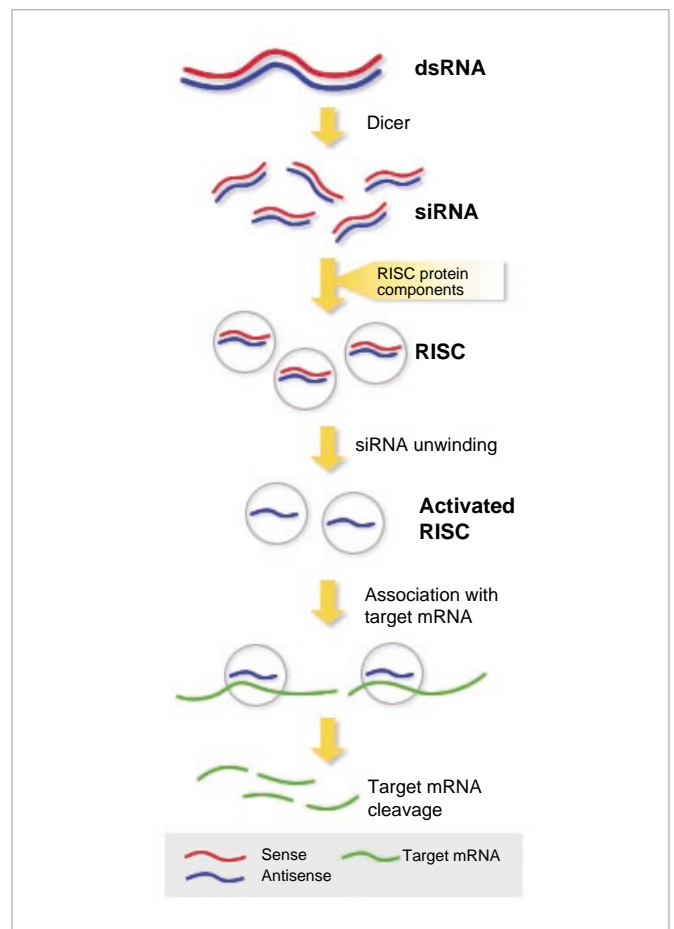


그림 1

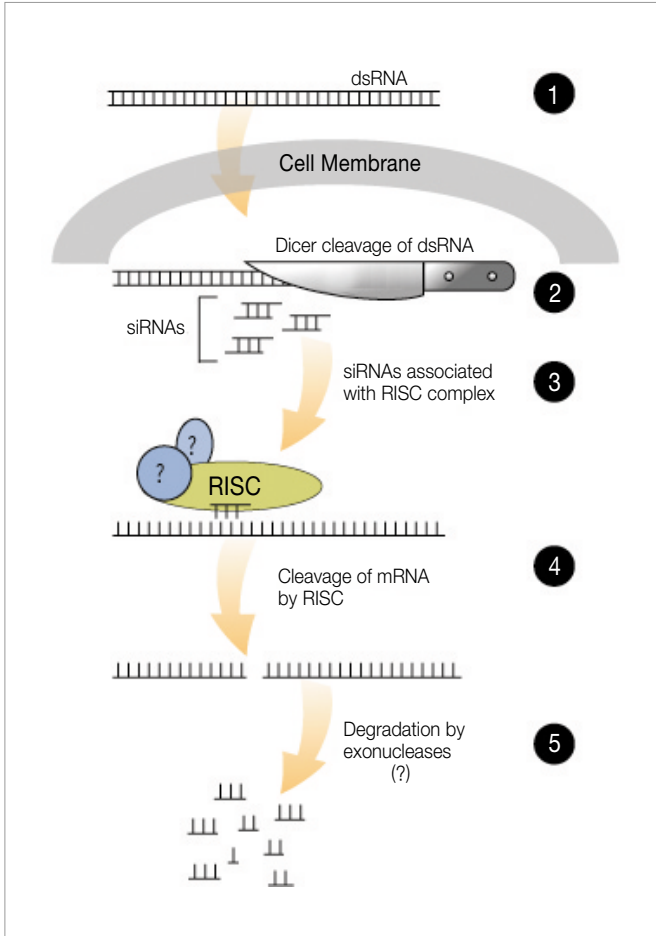


그림 2

(step 3) base pairing interactions에 의해 상동성 있는 transcript로 binding되어 mRNA를 분해한다 (step 4). 특이적으로 분해되는 mRNA (step 5)의 서열은 gene silencing의 결과이다.

RNAi는 *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila*에서 유전자 기능을 밝혀 내기 위해 사용해 왔었다. 이런 생물체에서 RNAi는 목적 mRNA에 대해 긴 서열의 상보적인 dsRNA의 도입에 의해 유도된다. 포유동물의 세포나 생물체에서 30 bp보다 긴 dsRNA 서열의 도입은 antiviral response를 활성화 시킨다. 그러므로 siRNAs는 포유동물의 세포나 생물체에서 RNAi를 유도하기 위해 사용된다. 이런 siRNAs는 chemical synthesis, *in vitro* transcription, 그리고 RNase III 또는 Dicer에 의한 dsRNA의 분해로 준비될 수 있으며, transfection, electroporation 또는 그 밖의 방법으로 세포 내로 도입될 수 있다. 다시 말해 siRNAs는 siRNA expression vector의 transfection이 이루어진 후 세포내에서 발현할 수 있는 것이다.

**참고문헌**

- Hannon GJ. (2002) RNA interference. *Nature* **418** (6894): 244-51.
- Bernstein E, Denli AM, Hannon GJ. (2001) The rest is silence. *RNA* **7**:1509-21.
- Hutvagner G, Zamore PD. (2002) RNAi: Nature abhors a double-strand. *Curr Opin Genetics & Development* **12**: 225-32.
- Fire, A. *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **391**, 806-811, (1998).
- Caplen, N.J., Parrish, S., Imani, F., Fire, A., & Morgan, R.A. Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 9742-9747. (2001).
- Elbashir, S.M. *et al.* Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* **411**, 494-498. (2001).
- D. Lewis, Hagstrom J., Loomis, A., Wolff, J., Herweijer, H. Efficient delivery of siRNA for inhibition of gene expression in postnatal mice. *Nature Genet* **32**:107-108, 2002.

**관련제품**

Mirus사 Label IT<sup>®</sup> siRNA Tracker<sup>™</sup> Intracellular Localization Kit

제품명	TaKaRa Code	용량
Label IT <sup>®</sup> siRNA Tracker <sup>™</sup> Cy <sup>™</sup> 3 Kit	V7200	Labels 50 µg
Label IT <sup>®</sup> siRNA Tracker <sup>™</sup> Cy <sup>™</sup> 5 Kit	V7201	Labels 50 µg
Label IT <sup>®</sup> siRNA Tracker <sup>™</sup> CX-Rhodamine Kit	V7202	Labels 50 µg
Label IT <sup>®</sup> siRNA Tracker <sup>™</sup> TM-Rhodamine Kit	V7203	Labels 50 µg
Label IT <sup>®</sup> siRNA Tracker <sup>™</sup> Biotin Kit	V7204	Labels 50 µg
Label IT <sup>®</sup> siRNA Tracker <sup>™</sup> Fluorescein Kit	V7205	Labels 50 µg

\* 모든 Kit에 siRNA 50 µg을 표식 가능한 양의 시약과 transfection을 500 회(24 well plate 사용 시) 수행 가능한 양이 포함되어 있다.

**siRNA 관련시약**

Mirus사 siRNA용 Transfection 시약

제품명	TaKaRa Code	용량
Trans IT-TKO <sup>™</sup> siRNA Transfection Reagent	V2150	~ 500 회 (24 well) 1 ml