

P604

RNAi Technology as a Tool for Functional Genomic Studies

Mun Kyung Kang¹, Yeon-Soo Kim^{P2}¹VectorCore A R&D Center,²Indang Institute of Molecular Biology and Department of Medical Laboratory Science, Inje University, Seoul 100-032

siRNA를 mammalian cell을 대상으로도 적용할 수 있다는 사실이 보고된 지 2년도 지나지 않아 많은 연구자들이 RNAi tool을 동물 세포배양 및 동물모델을 대상으로 유전자 기능 분석을 비롯한 다양한 연구에 적용하기 시작했다. 이는 비교적 siRNA의 제조와 적용 방법이 용이할 뿐 아니라, 조사하고자 하는 target gene들의 발현억제를 유도해야 하는 필요성이 강하게 요구되는 연구 분야가 genome project의 결과로 발전하고 있었기 때문이라는 분석 할 수 있다. 발표에서는 현재 mammalian system에서 적용하고 있는 siRNA를 이용한 연구분야를 간단하게 정리하고, 본 연구실에서 진행한 RNAi 기술을 이용한 oncogene validation 결과를 소개하고자 한다.

1. Studying gene function DNA array 기술, 2-D protein display 기술 등을 비롯해 유전자들의 발현 패턴을 대량으로 분석할 수 있는 다양한 기술들의 개발은 특정 phenotype과 관련된 유전자 (differentially expressed genes)들에 대한 대량의 data base를 양산하게 되었다. 이렇게 쏟아져 나오는 유전자들의 기능이 관련 phenotype과 연관성이 있는지의 여부를 가장 빠르고 간편하게 조사할 수 있는 방법이 siRNA를 이용하는 것이다. 기존의 antisense, ribozyme, transgenic animal, 및 knock-out mouse 기술들의 한계 및 단점들을 상당부분 해결할 수 있는 기술로 siRNA가 각광을 받고 있는 것이다. 이 분야에서는 암을 비롯한 여러 질병들의 유발원 인과 관련된 유전자들 뿐 아니라, 다양한 생명현상 (signal transduction, 노화, 발생, 분화 등)에 관여한다고 추측되는 유전자들의 기능 검증이 세포 배양 및 동물을 대상으로 활발히 연구가 진행되고 있다.
2. Finding new drug target in cultured cells
지금 까지 약 3,000여 가지의 질병이 유전자 발현 변이와 관계가 있는 genetic disease (including inherited diseases)라고 밝혀 지고 있다. 이러한 유전자와 질병간의 상관관계는 기능유전체연구가 진행되면서 더욱 증가하리라는 것은 쉽게 예측될 수 있다. 그러므로 질병의 치료 및 예방을 위한 신약을 개발하는데 target이 되는 유전자를 발굴하는 것은 제약회사 뿐 아니라 많은 연구자들 사이에서도 매우 매력 있는 연구 분야라 할 수 있다. 그러나 질병과 연관된 생리 현상들은 거의 모두 여러 유전자산물이 관여하는 pathway (signal transduction pathways 및 metabolic pathways)로 이루어지기 때문에 그 경로에 관여하는 유전자 중 어떤 유전자가 가장 우수한 (in terms of efficacy and safety) drug target이 될 수 있는지를 조사하는 gene validation study가 신약개발 단계에서 매우 중요한 위치를 차지하게 된다. 바로 이러한 drug target을 발굴하기 위한 gene validation study에 가장 이상적인 기술이 RNAi 기술이라 평가되고 있으며, 실제 많은 연구자들이 siRNA를 이용하여 배양세포 및 동물모델에서 target validation을 수행하고 있다.
3. Modeling tumor behavior in animals
앞서 간단히 언급했듯이 많은 질병 중에서 암은 사회경제적으로 미치는 파급효과가 매우 클 뿐 아니라, 질환의 발생부터 말기 암까지 진행되는 과정 (initiation, promotion, progression, angiogenesis, invasion, metastasis, etc.)이 매우 복잡하고 수 많은 유전자가 관련되어 있기 때문에 단일 질환 중 가장 많은 연구자와 연구비가 투여 되고 있는 분야이다. siRNA는 이러한 암 연구에 중요한 이정표를 세울 수 있는 기술적 기반을 제공할 수 있다고 평가되고 있는데, 수 많은 암 관련 유전자들이 tumor behavior에 어떻게 관여하고 있는지 규명하는데 siRNA가 이용될 수 있다.
4. Developing RNAi therapeutics
감염성 바이러스에 의해 발현되는 viral RNAs, 과발현되는 질환 유발 유전자의 mRNAs, 돌연변이에 의해 질환을 유발하는 유전자의 mRNAs 등, 여러 종류의 RNA들이 질환의 치료를 위해 표적이 될 수 있는 target RNA로 선정될 수 있다. 이들 target RNA를 degradation 시킬 수 있는 siRNA들은 새로운 형태의 drug으로 연구되고 있는데, 에이즈, 간염과 같은 바이러스성 질환, 광우병 유발성 prion RNA, 다양한 암 유전자, 그리고 자가면역질환을 비롯한 여러 가지 유전질환을 야기하는 유전자들이 현재 siRNA를 이용한 새로운 치료분야의 가능성을 타진하기 위해 실험에 사용되고 있다. 이러한 RNAi therapeutics를 개발하는 분야는 현재 매우 빠른 속도로 발전하고 있어 빠른 시일 내에 임상적용은 물론 그 적용범위가 크게 확대될 것으로 평가 받고 있다.
5. genome-wide studies with siRNA library
아직 보편화된 기술은 아니지만 RNAi 기술도 결국 high-throughput/large scale screening에 적용되어야 한다는 사실에 많은 연구자들이 동의하고 있는데, 이를 위해서는 다양하고 광범위한 siRNA library가 구축되어야 한다. 이미 선충류 및 초파리 연구자들은 각각 10,000개 유전자에 대한 siRNA library를 구축하여 인체 질환과 관련된 모델 시스템을 구축하여 각종 유전자들의 screening에 이용하고 있다. 이를 통해 각 종 중요한 질환 관련 유전자 및 유용 유전자들이 모델시스템에서 발굴되고 있어 인체를 대상으로는 어려운 사람의 질환관련 유전자들의 규명이 가시화 되고 있는 현실이다. 앞으로 배양세포 및 포유동물모델에서의 phenotype assay 방법들이 개발되고 high quality의 siRNA library가 구축된다면 보다 효과적인 유전자발굴이 이루어 질 수 있다고 기대된다.
6. Functional genomics for oncogene validation by RNAi technology
We have implemented a functional genomics strategy using siRNA technique to identify genes involved in carcinogenesis of human cells. We first defined a subset of genes whose expression profiles were deduced from cDNA array and 2-D/MALDI-TOF analyses after treatment of tumor specific cytotoxic agent. Of those genes, 12 genes were selected for examination whether suppression of the gene expression by siRNA could change or diminish the phenotypes of cancer cells such as high proliferation rate, colony formation capability, and anchorage independency. We obtained dramatically diminished tumor cell phenotypes for one gene of the genes tested; indicating that this targeted suppression of gene expression by siRNA technique is greatly useful for cell-based functional genomics study.