

研究課題情報

研究課題名	マウス個体で機能するタンパク質分解デグロンシステムの技術開発
課題管理番号	20km0210166j0002
統合プロジェクト	<u>ゲノム・データ基盤プロジェクト</u>
9つの連携分野プロジェクト	<u>その他</u>
事業名	<u>ナショナルバイオリソースプロジェクト</u>
タグ（2020）	<u>/研究の性格/その他</u> <u>/開発フェーズ/基礎的</u> <u>/対象疾患/該当なし<対象とする疾患なし></u> + 過去のタグ
代表研究機関	<u>大学共同利用機関法人情報・システム研究機構国立遺伝学研究所</u>
研究代表者	(2020) 相賀裕美子, 大学共同利用機関法人情報・システム研究機構国立遺伝学研究所, 国立遺伝学研究所 遺伝形質研究系 発生工学位研究室・教授 (2019) 相賀裕美子, 大学共同利用機関法人情報・システム研究機構国立遺伝学研究所, 国立遺伝学研究所 遺伝形質研究系 発生工学位研究室・教授
研究期間	2019年度-2020年度

課題への総配分額	27,600
----------	--------

(単位：千円)	2020年度	13,800
	2019年度	13,800

研究概要（2020）

2019年度作成した、全身でデグロン系を作用できる可能性を持つトランスジェニックマウスの解析を行う。Rosa領域に導入した全身性デグロン誘導マウスの作成(キメラから生殖細胞系列に導入)各組織における蛋白分解を解析する、必要に応じて培養系で解析する。組織特異的タンパク分解マウスの開発組織特異的デグロン系の検出に利用可能な全身性レポーター発現マウスを作成する。

[+](#) 過去の研究概要

研究成果情報

2020

2019

【成果報告書】

— 成果の概要

マウス個体でオーキシンドグロン系が機能するかどうかを見極めるために、トランスジェニック（TG）マウスを作成した。作成に使用したコンストラクトは、改良型のTIRIとそのレポーターAID-EGFPを持つDNAである。結果として、2系統のTGマウス系統を確立した。昨年度は、最初に作成したラインを用いて、オーキシンドグロンの腹腔内投与によりタンパク質分解誘導系が機能することを証明したが、今年度は、さらに発現の強いラインを確立したので、そのラインを用いて特にオーキシンドグロンの投与時間や投与濃度と分解の関係、またその回復過程などいろいろな条件検討を行った。これら2ラインはCAGプロモーターを使用したため、比較的全身で発現が確認できる。胎仔においてはほぼ全身的に発現が観察され、リガンドを母体に投与することにより、全身での発現が消失する。このTGは分解系と、そのレポーターが同じコンストラクトにのっているため、それは予想された結果である。成体における発現は組織による強弱が認められた。特に発現の強い組織は心臓、脳、すい臓、筋肉系であり、発現の弱い組織は、肝臓、肺、腎臓等であった。脳以外の組織ではタンパク質は数時間以内に速やかに分解されるが、リガンドの代謝に依存して、比較的緩やかにタンパク質は復活してくることが分かった。リガンドの濃度を調節することにより、ノックダウンの時間調整がある程度可能である。脳に関しては、今後、血液脳関門を通過できるリガンドの開発が重要であるが、マウスの個体レベルで、一過的に蛋白のノックダウンが可能であることは明らかになった。このラインの確立に関しては、すでに論文として、掲載されている (Nature Communications, 2020)。しかし、このコンストラクトでは、レポーターが同時に発現し、それが分解の標的になる。今後内在性のタンパク質を標的にする場合は、レポーターが内在性タンパク質と競合することになり、効率の低下につながる可能性が高い。そこで、TIRI遺伝子のみをCAGプロモーターの下流につないで、TGマウスを作成するとともに、ES細胞を介したノックイン法でRosa遺伝子座への遺伝子導入を試みている。すでにTGマウスでは発現確認している。キメラマウスも作成できており、このRosa遺伝子座から発現させることにより、より全身性の発現を実現できると期待している。したがって、マウスでAIDデグロン系は機能すること、リガンドに毒性はないこと、我々が確立したTGマウスラインは、タンパク質の分解を誘導するマウスとして有用であることが判明した。有用なマウスラインは速やかにNBRP(理研BRC)に寄託し国内外の研究者に利用可能にする予定である。

学会誌・雑誌等における論文一覧



1.Yesbolatova A, Saito Y, Kitamoto N, Makino-Itou H, Ajima R, Nakano R, Nakaoka H, Fukui K, Gamo K, Tominari Y, Takeuchi H, Saga Y, Hayashi KI, Kanemaki MT. The auxin-inducible degron 2 technology provides sharp degradation control in yeast, mammalian cells, and mice. Nat Commun. 2020 Nov 11;11(1):5701. doi: 10.1038/s41467-020-19532-z. PMID: 33177522



2.低分子化合物によるタンパク質分解制御 化学と生物 58(7), p411-415, 2020



3.斎藤裕一郎、鐘巻将人 オーキシンドグロン法によるプロテインノックダウン 実験医学, 28 (14) , 2020



4.鐘巻将人（分担執筆） ゲノム編集技術を応用した製品開発とその実用化 第12章改良型オーキシンドグロン法（AID2）を利用したタンパク質機能解析 技術情報協会 2020年3月

5.鐘巻将人 デグロン技術を利用した標的タンパク質分解 月刊細胞 2021年3月号

学会・シンポジウム等における口頭・ポスター



1.Rapid target depletion by an improved auxin-inducible degron system, Masato Kanemaki, Webinar at School of Life Sciences, University of Dundee, UK 2020/6/11 国際 口頭発表 不明 / 口頭

2.AID2は細胞及びマウス個体においてシャープなタンパク質分解制御を可能にする。鐘巻将人,広島大学HiHA Webinar, 2020/11/24, 国内, 口頭発表 国内 / 口頭

3.AID2 enables rapid target degradation in living mammalian cells and mice. Masato Kanemaki, NIG webinar, 2020/2/2, 国際 口頭発表 不明 / 口頭

4.Controlling protein expression by using the power of plants. Masato Kanemaki, Webinar at Institute de Biologie Integrative de la Cellule, France, 2020/2/12, 国際 口頭発表 不明 / 口頭