

2020 年 11 月 10 日

本件の取り扱いについては、下記の解禁時間以降でお願い申し上げます。

TV・ラジオ・WEB … 日本時間 2020 年 11 月 11 日(水)午後 7 時

新 聞 … 日本時間 2020 年 11 月 12 日(木)朝刊

狙ったタンパク質を生体内で高速分解除去する技術を開発

■ 概要

タンパク質の働きを調べるには、そのタンパク質を除去して何が起きるのかを調べるのが有効です。また、狙ったタンパク質の除去を任意のタイミングで制御できれば、タンパク質の機能を制御することができます。このようなニーズの中で、近年、「プロテインノックダウン⁽¹⁾」と呼ばれる、細胞内のタンパク質分解系を利用して標的タンパク質を分解する方法が注目されています。

情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所の鐘巻将人教授を中心とする研究グループは、目印になる「タグ」を付加したタンパク質を分解除去する「AID2 法」を開発し、出芽酵母、培養細胞、マウス個体において本方法が機能することを示しました。この方法では、タンパク質の分解のタイミングを 5-Ph-IAA という化合物の添加によって制御します。本技術により、狙ったタンパク質を必要な時のみ、素早く分解除去することが可能になったのです。

AID2 法を利用したタンパク質の発現操作は、生命科学の基礎研究に役立つのみならず、医学および創薬研究にも役立つことが期待されます。

本研究は国立遺伝学研究所の鐘巻将人教授が中心となり、同研究所の相賀裕美子教授、岡山理科大学の林謙一郎教授、東京大学の竹内春樹特任准教授、佐々木研究所の中岡博史部長、ファイメクス株式会社による共同研究により行われました。

本成果は英国科学雑誌「Nature Communications」に 2020 年 11 月 11 日(水)午後 7 時(日本時間)に掲載されます。

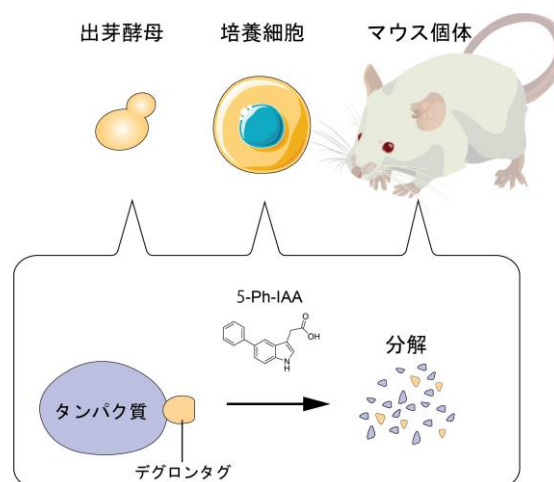


図 1: 出芽酵母、培養細胞、マウス個体において狙ったタンパク質を人為的に分解する技術を実現した。

■ 成果掲載誌

本研究成果は、英国科学雑誌「Nature Communications」に 2020 年 11 月 11 日(水)午後 7 時(日本時間)に掲載されます。

論文タイトル: The auxin-inducible degron 2 technology provides sharp degradation control in yeast, mammalian cells, and mice

(オーキシンドグロン 2 は酵母、哺乳類培養細胞、マウス個体において鋭い分解制御を可能にする)

著者: A Yesbolatova, Y Saito, N Kitamoto, H Makino-Itou, R Ajima, R Nakano, H Nakaoka, K Fukui, K Gamo, Y Tominari, H Takeuchi, Y Saga, K Hayashi, MT Kanemaki

(Aisha Yesbolatova、斎藤裕一郎、北本直美、伊藤初音、安島理恵子、中野理沙子、中岡博史、福井康佑、蒲香苗、富成祐介、竹内春樹、相賀裕美子、林謙一郎、鐘巻将人)

■ 研究の詳細

● 研究の背景

近年、ゲノム編集により遺伝子改変が飛躍的に容易になり、日常的に遺伝子欠損細胞やマウスが作製されて、様々な研究に使われるようになりました。しかしながら、遺伝子の欠損が細胞やマウスの致死を引き起こすケースも多く、その遺伝子の機能を研究できない場合があります。また、遺伝子欠損による影響が、普段は使われていない他のタンパク質により相補されてしまい、タンパク質の機能が見えてこないこともあります。これらの問題を回避するには、標的「タンパク質」を必要な時にのみ、素早く除去することが有効です。

鐘巻教授の研究グループは、植物が持つタンパク質分解経路を酵母やヒト培養細胞に導入し、植物ホルモン「オーキシシン」を添加することで、標的タンパク質を分解する「オーキシンドグロン⁽²⁾(auxin-inducible degron: AID)法」を開発していました(図 2)。

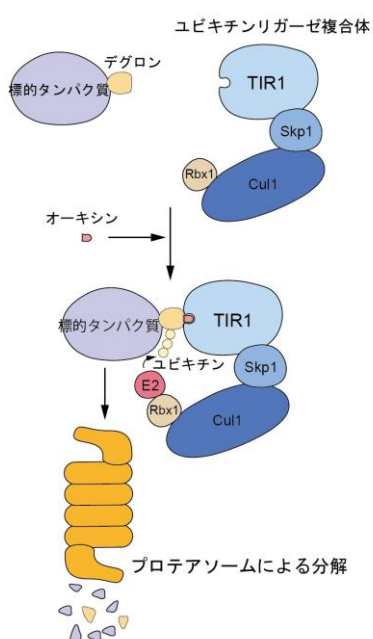


図 2: AID 法によるタンパク質分解誘導

すでに AID 法は世界中の細胞生物学研究において使われています。しかしながら、従来の AID 法はオーキシンを添加しなくてもデグロンを付加した標的タンパク質が若干分解されること、分解誘導の際に必要なオーキシン濃度が高いことが問題でした。また、これらの問題もあり、これまで誰も AID 法をマウス個体に応用することに成功していませんでした。

● 本研究の成果

AID 法は TIR1、オーキシン(リガンド)、デグロンタグの三つから構成されます。鐘巻教授のグループは、AID 法と植物生理学研究分野におけるオーキシン分解経路の研究をもとに、オーキシン結合部位に変異を導入した「変異 TIR1」とオーキシン類似化合物「5-Ph-IAA」を利用する「AID2 法」を開発しました(図 3)。

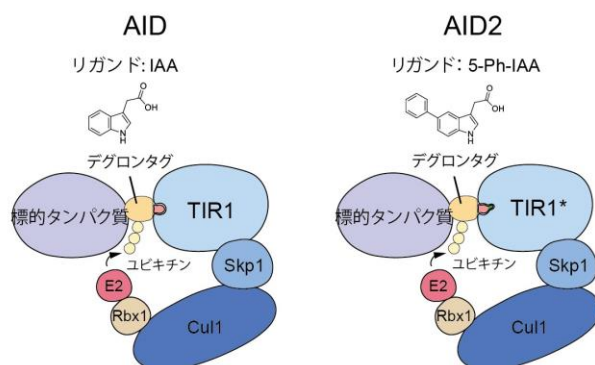


図 3: AID と AID2

細胞に導入した TIR1 は内在性ユビキチン⁽³⁾リガーゼ⁽⁴⁾複合体に取り込まれて機能する。デグロンタグを付加した標的タンパク質はリガンド化合物の添加時に分解される。AID2 では、TIR1 変異体と新リガンド 5-Ph-IAA を利用する。

変異 TIR1 は、化合物を添加しない状態でタンパク質を分解する活性を持ちません。さらに、従来の 670 分の 1 以下という低濃度の化合物により、変異 TIR1 は活性化されてタンパク質分解を誘導します。これにより、標的タンパク質は普段は影響を受けることなく(図 4A)、1 μ M 以下の低濃度化合物で分解誘導することが可能になりました(図 4B)。さらに従来の AID 法に比べて分解に必要な時間もより短くなりました(図 4C)。

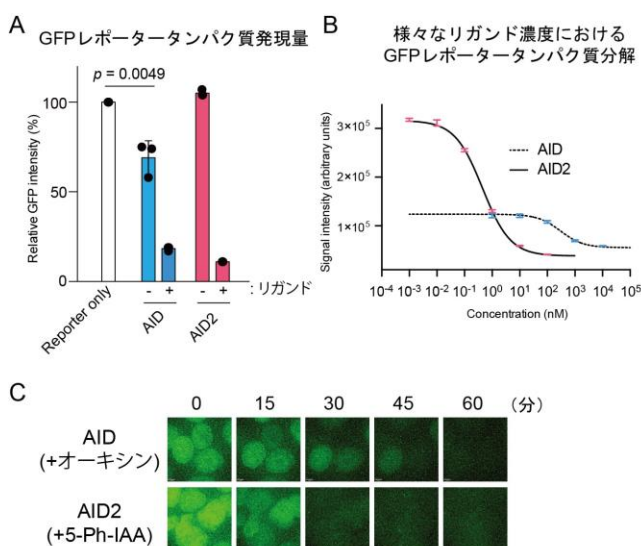


図 4: AID と AID2 の培養細胞内での比較データ

また、この AID2 法が出芽酵母、ヒト培養細胞、マウス神経細胞において実際に機能すること、さらに、マウス個体においても、5-Ph-IAA を腹腔注射することにより、AID2 法が機能することを示しました(図 5)。

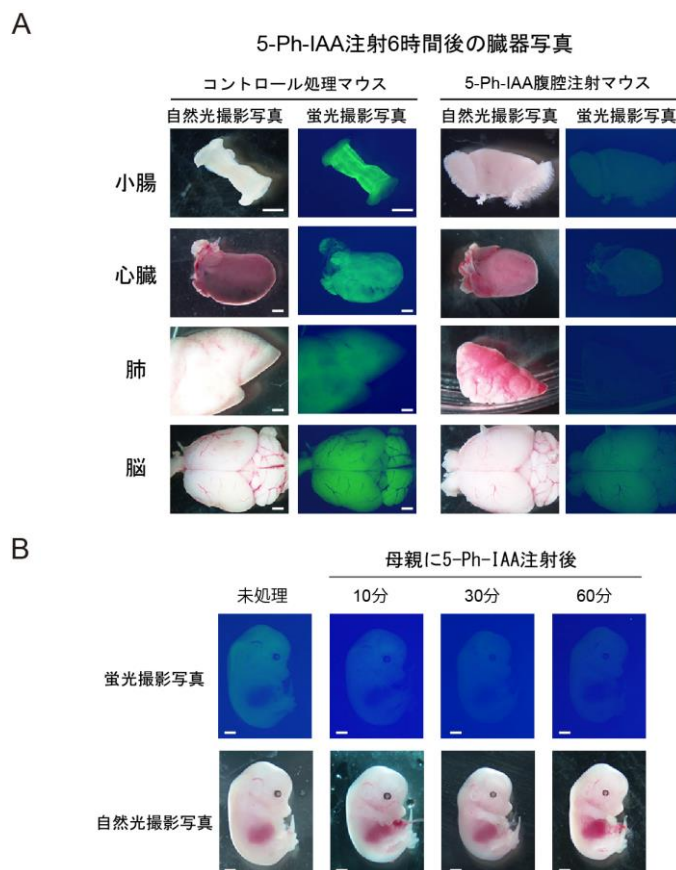


図 5: GFP レポータータンパク質発現トランスジェニックマウスにおける分解誘導

これらの結果は、細胞生物学研究へのオーキシングロン法の活用を一層加速し、さらにこれまでオーキシングロン法が活用できなかったマウス個体を使った研究に波及効果を与えるものです。

● 今後の期待

AID2 法により酵母や培養細胞を用いた基礎研究がより一層進むことが期待されます。また、マウスで AID2 法が活用可能になったことにより、マウス個体を利用した様々な基礎研究に波及効果があると考えられます。さらに、病態マウスの作出や創薬開発においても AID2 が役立つことが期待されます。

今後はマウス以外の動物個体に応用されて、タグを利用したプロテインノックダウンの主要技術の一つとなることが予想されます。

■ 用語解説

(1)プロテインノックダウン

タンパク質を細胞内の分解系を利用して分解除去すること

(2)デグロン

タンパク質分解を誘導するペプチド配列

(3)ユビキチン

分解の目印タンパク質

(4)ユビキチンリガーゼ

標的タンパク質にユビキチンを付加する酵素

■ 特許について

本技術に関しては、2 件の特許(PCT/JP2020/18237、PCT/JP2020/18310)を出願中です。

■ 研究体制と支援

本研究は国立遺伝学研究所の鐘巻将人教授が中心となり、同研究所の相賀裕美子教授、岡山理科大学の林謙一郎教授、東京大学の竹内春樹特任准教授、佐々木研究所の中岡博史部長、ファイメクス株式会社による共同研究により行われました。

本研究は JSPS 科研費(16K15095, 18H02170, 18H04719, 20H05396)、JST A-STEP(AS2915150U)、武田財団特定研究助成、旭硝子財団研究助成、AMED ナショナルバイオリソースプロジェクト基盤技術整備プログラムの支援により遂行されました。

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

- 国立遺伝学研究所 分子細胞工学研究室
教授 鐘巻将人（かねまき まさと）

<報道担当>

- 国立遺伝学研究所 リサーチ・アドミニストレーター室 広報チーム
- 岡山理科大学 入試広報部

※時節柄、Zoom 会議での取材にも対応できますので、Zoom 会議をご希望の場合には、その旨お知らせください。