

2024 年 8 月 21 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。

報道解禁時間 … 日本時間 2024 年 8 月 23 日(金)午後 6 時

ダブルデグロン技術を開発し、標的タンパク質の超高効率かつ超迅速な分解に成功 ～本技術により DNA 複製の無い細胞周期進行を誘導できた！～

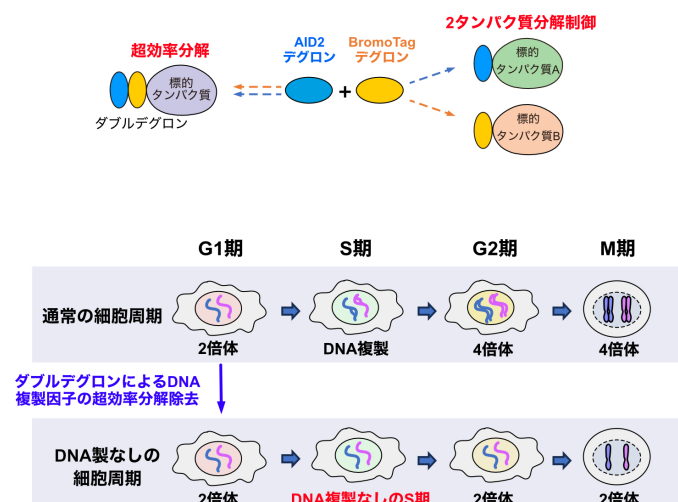
■ 概要

情報・システム研究機構国立遺伝学研究所・鐘巻将人教授のグループは、これまでに、目的タンパク質を迅速に除去することでタンパク質機能解析を可能にするオーキシン誘導デグロン⁽¹⁾(AID)法を開発し、さらに近年改良型 AID2 法を発表してきました(Nishimura et al., Nat. Meth., 2009; Yesbolatova et al., Nat. Commun., 2020)。AID2 法はすでに幅広い細胞生物学研究で活用されています。しかしながら、鐘巻グループは一部のタンパク質には AID2 法を用いても分解除去が不十分なケースに気づきました。そこで本研究では、AID2 と BromoTag という別のデグロンを組み合わせたダブルデグロン技術を開発し、標的タンパク質を超高効率かつ超迅速に分解除去することに成功しました。これにより、従来解析が難しかったタンパク質の機能評価を可能にしました。さらに、AID2 と BromoTag を利用して、二つの標的タンパク質を独立に分解制御することも示しました。

本研究では、さらに、ダブルデグロン技術の応用例として、DNA 複製因子を超高効率分解した結果、DNA 複製の完全な抑制に成功し、その際に細胞周期が DNA 複製なしに分裂期まで進行することを見出しました。この結果は、細胞はこれまで予想されていた DNA が倍化したかどうかを認識するシステムを持たないことを意味しています。本成果はデグロン技術の拡張性を証明するとともに、DNA 複製と細胞周期のより深い関係性の理解につながると期待されます。

本研究は国立遺伝学研究所の鐘巻将人教授の研究グループが中心となり、英ダンディー大学の Alessio Ciulli 教授、岡山理科大学の林謙一郎教授との共同研究により行われ、国際学術誌「EMBO Reports」に 2024 年 8 月 23 日に掲載されます。

技術概要



図の説明：デグロン技術の拡張とその利用による DNA 複製なしの細胞周期進行の誘導

■ 成果掲載誌

本研究成果は、国際科学雑誌「EMBO Reports」に 2024 年 8 月 23 日（日本時間）に掲載されます。

論文タイトル: Combination of AID2 and BromoTag expands the utility of degron-based protein knockdowns

(AID2 と BromoTag の組み合わせは、タンパク質ノックダウンの実用性を拡張する)

著者: Yuki Hatoyama (鳩山雄基)*, Moutushi Islam*, Adam G. Bond, Ken-ichiro Hayashi (林謙一郎), Alessio Ciulli and Masato T. Kanemaki (鐘巻将人) *: 本研究に等しく貢献

DOI: 10.1038/s44319-024-00224-4

■ 研究の詳細

● 研究の背景

近年、ゲノム編集技術の進歩により遺伝子欠損解析が幅広く行われるようになり、多くのタンパク質機能が解き明かされています。しかし、遺伝子破壊により細胞や個体が致死になるような必須タンパク質や、細胞周期等のダイナミックな生命現象に関与するタンパク質が対象の場合、遺伝子欠損細胞が得られないことや、遺伝子破壊では欠損後すぐの影響を検証することができないことから、タンパク質機能の解析が困難なケースがあります。このような問題を解決する新技術として、鐘巻グループはこれまでに、標的タンパク質を迅速分解除去するオーキシン誘導デグロン法 (AID 法) を開発し、近年には改良型 AID2 法を発表しました (図 1)。しかし、AID2 法を用いてヒトの DNA 複製因子の解析を進める過程で、ORC1 タンパク質⁽²⁾や CDC6 タンパク質⁽³⁾など一部の DNA 複製因子の分解が不十分であり、機能解析が難しいケースがあることに気がきました。そこで、鐘巻グループは AID2 をさらに改良して、分解力の強化を目指しました。

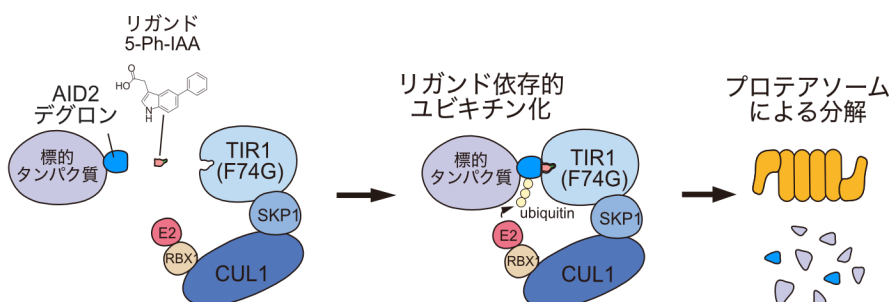


図 1. これまでに開発した AID2 法の標的タンパク質分解機序

細胞に導入した TIR1(F74G)が内在性ユビキチン⁽⁴⁾リガーゼ⁽⁵⁾複合体に取り込まれ、リガンド依存的に標的タンパク質をユビキチン化する。その後標的タンパク質は速やかにプロテアソーム⁽⁶⁾により分解される。

● 本研究の成果

本研究では、AID2 と他のデグロン技術と組み合わせる戦略を立てました。PROTAC 技術⁽⁷⁾を基盤にした BromoTag 法は、AID2 とは独立した経路で標的タンパク質を分解誘導します。そこで、AID2 と BromoTag デグロンを 2 つ直列に繋いだダブルデグロンを作成し、ORC1 を分解したところ、両方の分解誘導薬添加時により迅速かつ強力に分解できることを見出しました (図 2A)。また、AID2 と BromoTag を染色体形成等に重要な機能

を持つコヒーシン複合体とコンデンシン複合体にそれぞれ適用したところ、各複合体を独立に分解制御できることも示しました(図 2B)。

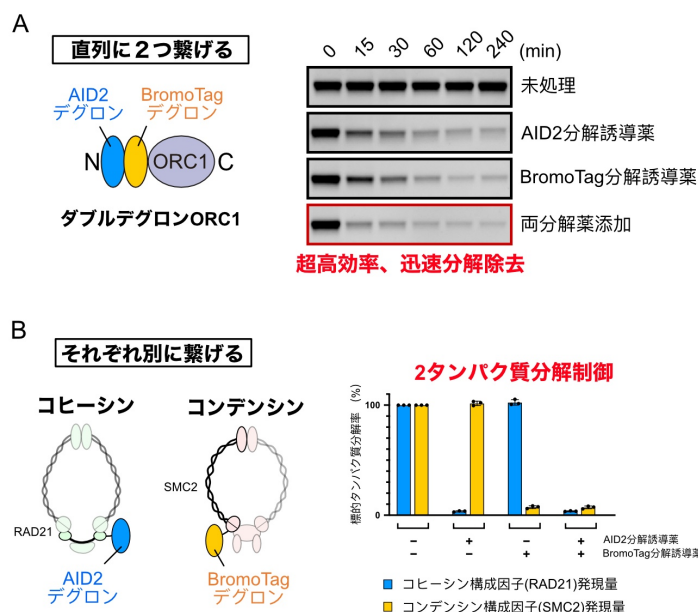


図 2. AID2 と BromoTag を組み合わせたデグロン技術

ダブルデグロンを用いて 2 つの DNA 複製因子を同時に分解除去したところ、DNA 複製の完全な抑制に成功しました。興味深いことに、その際に細胞は細胞周期を DNA 複製無しに進行させ、分裂期まで移行しました(図 3)。これは、細胞周期の進行に DNA 複製は必ずしも必要ないことを示し、細胞はこれまで予想されていた DNA が倍化したかどうかを認識するシステムは持たないことを示しています。

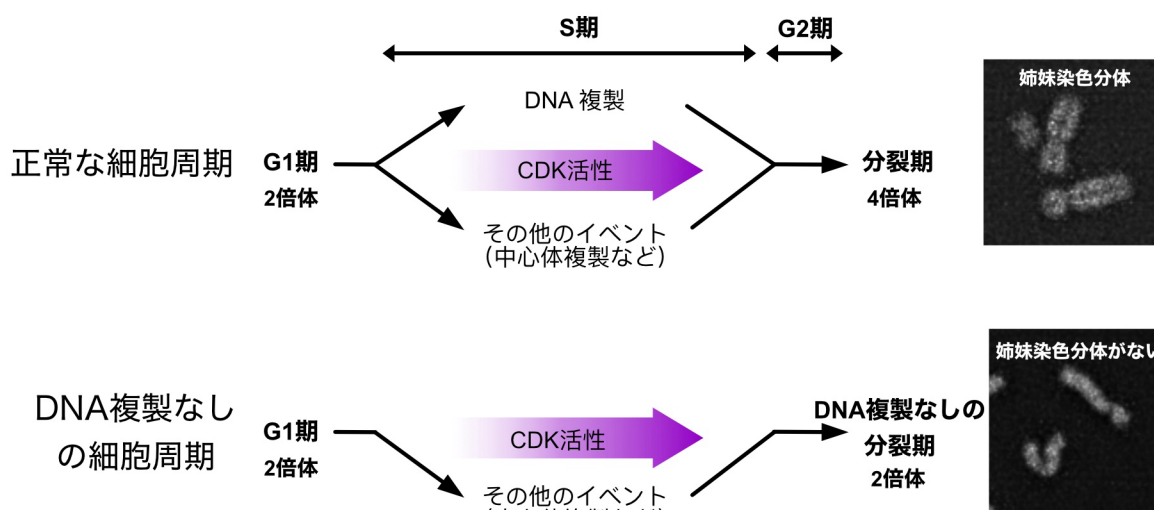


図 3. DNA 複製を完全に抑制すると複製なしに分裂期へ進行する

● 今後の期待

今回示した AID2 と BromoTag の組み合わせにより、細胞生物学研究におけるデグロン技術の利用がより一層進むことが期待されます。さらに、ダブルデグロン技術を用いた ORC1/CDC6 の分解は、完全に DNA 複製の開始を抑制し、DNA 複製と細胞周期を切り離すことが可能であるため、DNA 複製と細胞周期の関係性の研究や染色体研究などにおいても有効な研究材料になるでしょう。

■ 用語解説

- (1) デグロン: タンパク質分解を誘導するペプチド配列
- (2) ORC1: 複製に必須な複製ヘリカーゼを DNA にロードする際に重要な DNA 複製因子。
- (3) CDC6: ORC1と同様に複製ヘリカーゼを DNA にロードする際に重要な DNA 複製因子
- (4) ユビキチン: 分解の目印となるタンパク質修飾
- (5) 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
- (6) プロテアソーム: ユビキチン化されたタンパク質を分解処理するタンパク質複合体装置
- (7) PROTAC 技術: 人工化合物によりユビキチンリガーゼと標的タンパク質を橋渡しして、分解経路に誘導する技術

■ 研究体制と支援

鐘巻グループ(情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所): 実験遂行と研究取りまとめ

林グループ(岡山理科大学): AID2 リガンドの合成と提供

Alessio Ciulli グループ(英 Dundee 大学): BromoTag 技術の提供

本研究は科研費(21H04719, 23H04925)、JST CREST(MJCR21E6)によりサポートされました。総研大生博士課程の鳩山雄基は学術振興会特別研究員(DC2)、同 Moutushi Islam は文科省国費留学生奨学金を受給しています。

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

- 情報・システム研究機構 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>

- 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 広報室

※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。

配付先

文部科学記者会、科学記者会、三島記者クラブなど