

12 細胞内在性シグナル分子の局在制御技術の開発	築地 真也
--------------------------	-------

【目的】 タンパク質の細胞内局在を人為的に制御する技術は、細胞機能の作用機序解明や人工操作のための強力なツールとなる。これまでに、タンパク質の局在を化合物で制御する幾つかのケミカルツールが開発されてきた。しかし、既存の手法はいずれも、標的タンパク質を改変したものを細胞内に過剰発現させ、その外来発現タンパク質の局在を化合物で動かすものであった。そこで本研究では、細胞内の任意の内在性タンパク質の局在を化合物で制御可能な新しい基盤技術の開発に取り組んだ。

【方法】 内在性タンパク質の局在を制御するための基本戦略として、我々が独自に開発した「局在性リガンドによるタンパク質局在移行 (SLIPT) システム」と「ゲノム編集」を融合するというアプローチを考えた (下図)。すなわち、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集技術を利用することで、標的とする内在性タンパク質に eDHFR タグをノックインする。そして、eDHFR に対する局在性リガンドを用いることで、eDHFR でタグ付けされた内在性タンパク質の細胞膜移行を誘導する。このような技術は、さまざまな内在性シグナル分子の局在を制御する汎用的な基盤技術になるものと期待される。

【結果】 内在性シグナル分子の局在制御技術の開発を目指し、本研究では、以下の要素技術を確立することに成功した。
 1. 細胞膜インナーリーフレットへの安定な局在移行を実現する新しい局在性リガンドの開発。
 2. 標的タンパク質のさまざまな部位に融合でき、汎用的な細胞膜移行を実現する改変型 eDHFR タグの創製。
 3. 標的内在性タンパク質の C 末端に eDHFR タグをノックインするゲノム編集法の確立。

今後は、本研究で得られた要素技術を統合することで、内在性シグナル分子の局在を制御する基盤技術を確立し、内在性のシグナル分子やシグナル経路の人為的操作に立脚した新しい生命研究アプローチを切り拓くことを目指す。

SLIPT とゲノム編集の融合による内在性シグナル分子の局在制御

