

# 分子細胞生物学セミナー

## ヒト培養細胞におけるオーキシシン デグロン(AID)法の利用と応用

鐘巻 将人 准教授

国立遺伝学研究所 新分野創造センター

3月1日(火)16:00~17:30

北キャンパス シオノギ創薬会議室1・2

遺伝学的発現抑制は標的タンパク質の機能解析に非常に有用であり、近年利用が急速に広まっている CRISPR/CAS により作成した、ヒトおよびマウスノックアウト細胞の利用は私たちの研究を大きく変えようとしています。しかしながら、生育に必須な因子はノックアウト不可能であり、何らかの方法でコンディショナル発現抑制する必要がありました。

私たちの研究室では、植物ホルモンオーキシシンの作用機序に注目し、オーキシシンが引き起こす分解経路を出芽酵母に移植することでオーキシシンデグロン (AID) 法を確立しました (Nishimura et al, Nat. Meth., 2009)。この方法は、原理的にはヒト細胞でも作用しますが、内在性遺伝子改変を必要とするため、ヒト細胞での実際の利用が困難でした。

私たちは CRISPR/CAS によるノックインを改良することで、ヒト内在性遺伝子に対する AID コンディショナル変異細胞を約 3 週間で作成する技術を開発しました。この細胞では、60-90 分で標的因子を分解除去することが可能で、その発現も可逆的に制御できます。

本セミナーではヒト細胞における AID コンディショナル変異細胞作成に関してまずお話したいと思います。さらに、本技術を応用した DNA 複製フォーク人為的破壊実験から明らかになりつつある、複製フォーク不安定化に対処するメカニズムを議論したいと思います。