

研究題目 ゲノム編集による AirID ノックインマウスの作出

研究組織

研究代表者：今井 祐記（愛媛大学プロテオサイエンスセンター）

共同研究者：竹本 龍也（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

愛媛大学で開発された近位依存性ビオチン酵素である AirID (Kohki Kido, et al. *elife*, 2020) は、他のビオチン化酵素と比較しても非特異的なビオチン化が少ないこと、細胞毒性を示さないことが確認されており、生体内におけるタンパク質間相互作用を解明する上で非常に有用なツールである。AirID 配列をマウス内在性遺伝子へ挿入できれば、より正確な生体内におけるタンパク質間相互作用を解析することが可能となる。そこで本研究では、AirID と任意の内在性タンパク質の融合タンパク質発現マウスの作出を目指す。

[1-2]研究の方法・経過

CRISPR/Cas9 システムにより AirID 配列をマウス内在性遺伝子に挿入し、AirID と融合した標的タンパク質を発現するマウスを作出した。作製したマウスの組織における AirID と融合した標的タンパク質を western blotting により確認した。質量分析により AirID との融合タンパク質によりビオチン化されたタンパク質を解析した。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

本共同研究により AirID 配列をマウスゲノムへ挿入することが可能となり、目的とする AirID knock in (KI) マウスの作出に成功した。

作出したマウスの組織中において AirID と標的タンパク質が融合しているのか確認するために western blotting を実施した結果、想定された分子量で融合タンパク質が認められた（図 1）。さらに、質量分析により標的タンパク質と相互作用する既知のタンパク質のビオチン化も認められ、作出したマウスの生体内において AirID が良好に機能していることが確認できた。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本研究により、任意のタンパク質のタンパク質間相互作用を生体レベルで網羅的に解析することが可能となった。この研究成果は、標的とするタンパク質の未知の相互作用分子の検出や組織特異性の解明に繋がるなど、その波及効果・研究の発展性は極めて高い。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表
なし

[3-2]学会発表
なし

[3-3]成果資料等

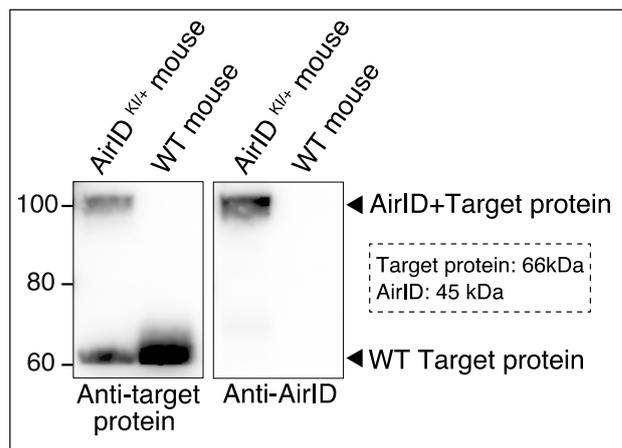


図 1. AirID と標的タンパク質の融合タンパク質の検出

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

今後は、CRISPR/Cas システムの種類及びドナー配列挿入時の条件等を検討し、KI マウス作出の更なる効率化を目指す。