

29G-am05

化合物による活性誘導が可能なジンクフィンガーヌクレアーゼの創製

○野村 渉¹, 増田 朱美², 卜部 亜里沙¹, 鳴海 哲夫¹, 玉村 啓和^{1,2} (¹東京医歯大生材研, ²東京医歯大院疾患生命研)

【目的】ジンクフィンガーヌクレアーゼは標的配列特異的に DNA 二重鎖切断できる酵素であり、遺伝子機能の阻害などに広く応用が期待されている。一方で、ヌクレアーゼの高い活性から非特異な切断による細胞毒性が問題となっている。本研究ではヌクレアーゼ活性を化合物で制御可能な系の構築による細胞毒性の低下を目的とした。

【方法】タンパク質ドメインの二量化制御には FKBP-FRB-ラパマイシンの複合体を利用した。ジンクフィンガードメイン、*FokI* ドメインのそれぞれに FKBP, FRB を融合させた酵素を構築した。それぞれのドメインは *in vitro* 翻訳系で作製し、標的となる DNA 配列を有する DNA フラグメントを用いて DNA 切断活性に関する検討を行なった。

【結果および考察】FKBP を融合したジンクフィンガードメインは高い DNA 結合活性を有することが明らかになった。FRB を融合した *FokI* ドメインは DNA 結合活性が見られなかった。それぞれの融合ドメインの存在下で標的 DNA フラグメントを加えた場合、ラパマイシンの添加時にのみ標的配列での DNA 二重鎖切断が誘導されることが示された。この方法を哺乳類細胞内で応用することで、効率的なノックアウトモデルの作製、および疾病原因遺伝子の阻害が行なえると期待できる。



図. ラパマイシンによる活性制御について