

27Q-am05S

PUM ホモロジドメイン (PUM-HD) を用いた新規配列特異的 RNA 結合タンパク質の開発

○篠田 昂樹¹, 今西 未来¹, 二木 史朗¹ (¹京大化研)

【背景と目的】配列特異的な DNA 結合タンパク質を利用したゲノム編集技術が急速な成長を遂げた。一方、配列特異的 RNA 結合タンパク質を利用して、スプライシングや翻訳、RNA 安定性を RNA レベルで制御できることが期待されている。RNA1 塩基を認識するユニットの繰り返し構造を持ち、任意の RNA8 塩基を認識する Pumilio and FBF homology domain (PUM-HD) タンパク質は RNA ターゲティングの基盤として有望な候補のひとつである。しかし、その野生型は 8 塩基しか認識できないため、配列特異的に特定の遺伝子転写物だけを標的にするには、認識能が不十分であることが懸念される。本研究では、伸長型 PUM-HD タンパク質の開発に取り組んだ。

【方法】以前報告された伸長型 PUM-HD (Nat. Chem. Biol. 2011, 7, 425-427)を参考に、8 ユニットからなる 2 種類の PUM-HD を組み合わせて、ユニット間に 8 ユニットの挿入した 16 ユニット型 PUM-HD 発現ベクターを構築した。作製した 16 ユニット型 PUM-HD の RNA 結合機能を評価するために、ルシフェラーゼ遺伝子の 5'UTR 領域に標的配列を導入したレポータープラスミドを作製し、レポーターアッセイを行った。

【結果】16 ユニット型 PUM-HD の中にはもとの 8 ユニット PUM-HD と比べて、強い抑制を示すものとそうでないものがあった。8 ユニット同士を組み合わせることで結合配列の拡張が可能であること、挿入によって隣接するユニットが結合能力に大きく影響することが示唆された。今後は、16 ユニット PUM-HD の親和性や選択性を検証していきたい。