

AID システムクローン [Auxin-Inducible Degron]

細胞内の標的タンパク質を短時間で分解！

- 1 15 ～ 30 分で抑制確認！
- 2 動物細胞で利用可能！
- 3 任意に分解を開始できる！

詳細はコチラです <https://dna.brc.riken.jp/DataSheet/GRP0016j>

DNA Bank では、標的タンパク質を短時間で分解除去できるツール AID システムクローンを提供いたします。

AID system とは？

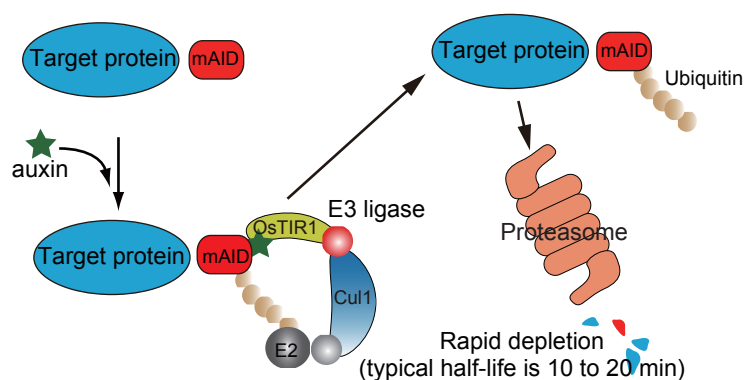
植物ホルモン「オーキシシン」の培地への添加を引き金にタンパク質の分解を誘導する画期的なタンパク質発現制御技術です。

これまでのタンパク質抑制実験の問題点

タンパク質の機能の解析のために内在性のタンパク質の発現を抑制する手法として、オリゴヌクレオチドによる遺伝子のノックダウンや薬剤応答プロモーターを用いた発現制御などが汎用されます。しかし、十分な発現抑制効果を得るまでに時間を要することから、より速やかな抑制技術が求められていました。

AID system のご利用をお薦めします !!

- AID system を利用することで 15 分から 30 分程度（発現量が半減する目安時間は、10 分から 20 分程度）でタンパク質の発現量の変化を確認できます（原著論文 1）。
- 培地へのオーキシシンの添加量により、タンパク質の発現量（分解量）を調節できます（原著論文 1）。
- オーキシシンによる動物培養細胞株への細胞毒性はほとんどありません。



オーキシシンデグロン法 (AID 法) による標的タンパク質の分解除去（図：国立遺伝学研究所 鐘巻将人先生より提供）

- 開発者によるAIDシステム使用成果については、国立遺伝学研究所のプレリリースをご参照ください

[取り除けば働きがわかる！]

https://www.nig.ac.jp/nig/ja/2016/03/research-highlights_ja/20160325.html

[壊れた「DNAのファスナー」を修理するには？]

https://www.nig.ac.jp/nig/ja/2017/05/research-highlights_ja/20170510.html



■ 標的タンパク質への分解タグ付加用プラスミド

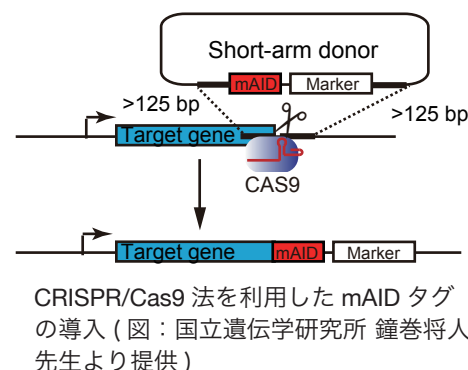
CRISPR/Cas9 法によるノックインにより、タンパク質分解の標的とする遺伝子に、mAID 塩基配列を挿入することでタグ付けします。

- ・ AID タグには、mAID-mClover、あるいは mAID-mCherry2 も作製されており、標的タンパク質の蛍光観察が可能です。
- ・ AID タグの選択マーカーは、Neomycin 耐性、Hygromycin 耐性、Blasticidin S 耐性から選択できます。

AID tag プラスミド

Selection marker	AID-tag		
	mAID	mAID-mClover	mAID-mCherry2
Neomycin	pMK286 [Cat# RDB13929]	pMK289 [Cat# RDB13932]	pMK292 [Cat# RDB13935]
Hygromycin	pMK287 [Cat# RDB139230]	pMK290 [Cat# RDB13933]	pMK293 [Cat# RDB13936]
Blasticidin S	pMK288 [Cat# RDB13931]	pMK291 [Cat# RDB13934]	pMK294 [Cat# RDB13937]

Short-homology mediated tagging



■ OsTIR1 発現細胞株作製用プラスミド

培養細胞にイネ由来 OsTIR1 を発現させ、オーキシンを添加することで mAID をタグ付けしたタンパク質の分解が誘導されます。原著論文 (2) では、ヒト培養細胞の AAVS1 サイトにノックインする OsTIR1 発現ドナーベクター、並びに AAVS1 サイト標的用の専用ベクターが開発されました。

OsTIR1 発現用ドナーベクター

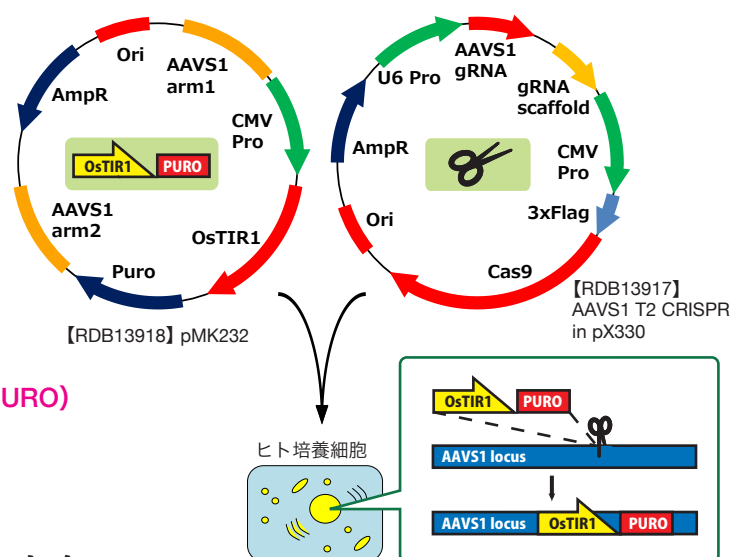
【Cat # RDB13918】 pMK232 (AAVS1 CMV-OsTIR1-PURO)

AAVS1 サイトに導入し OsTIR1 を発現させます。
ピューロマイシン耐性ベクターです。

AAVS1 サイト標的用の Cas9/gRNA 発現ベクター

【Cat # RDB13917】 AAVS1 T2 CRIPR in pX330

ヒト培養細胞で、OsTIR1 発現用ドナーベクターの AAVS1 サイトへの導入に用います。



mAID タグを付加した標的タンパク質を分解誘導するための親細胞株の樹立

AID system 参考文献

1. Nishimura, K., et al., Nat. Methods 6, 917-922, 2009.
2. Natsume, T., et al., Cell Reports 15, 210-218, 2016.
3. Kanemaki, M., Eur. J. Physiol. 465, 419-425, 2013.
4. Takagi, M., et al., Genes Cells 21 (10): 1113-1124, 2016.



AID system発現ベクター
に関するお問い合わせ

<https://dna.brc.riken.jp/DataSheet/GRP0016j>
E-mail: dnabank.brc@riken.jp

