

フォトクロミック化合物を用いたタグ融合蛋白質の光分解技術 の開発

○小和田俊行^{1,2}・松尾章弘²・Himadri S. Sarkar¹・松井敏高^{1,2}・水上 進^{1,2} (¹東北
大多元研、²東北大院理)

Development of photo-degradation technology of tag-fused proteins (Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University¹, Graduate School of Science, Tohoku University²) KOWADA, Toshiyuki^{1,2}; MATSUO, Akihiro²; SARKAR, Himadri S.¹; MATSUI, Toshitaka^{1,2}; MIZUKAMI, Shin^{1,2}

蛋白質分解誘導剤 (PROTAC) は標的蛋白質のリガンドと E3 リガーゼリガンドをリンカーで繋いだ分子であり、ユビキチン-プロテアソーム系を利用した細胞内蛋白質の選択的分解ツールとして注目されている。蛋白質分解活性を光制御できれば、一細胞レベルあるいは細胞内局所レベルの空間分解能を持った標的蛋白質の濃度調節により、細胞機能の分子機構の解明に繋がると期待できる。そこで本研究では、蛋白質タグを持つ標的蛋白質を選択的に光で分解する手法の構築を目指し、大腸菌ジヒドロ葉酸還元酵素 (eDHFR) のフォトクロミック阻害剤である **azoPyQM** (Figure 1)¹ および E3 リガーゼリガンドであるサリドマイド誘導体 (ポマリドミド) を有する光応答性蛋白質分解誘導剤を開発した (Figure 2)。

まず初めに、eDHFR 融合蛋白質の細胞内蛋白質分解系を構築するため、eDHFR 阻害剤であるトリメトプリム (TMP) とポマリドミドを有する PROTAC を設計・合成した。

eDHFR 融合緑色蛍光蛋白質 (eDHFR-EGFP) を安定的に発現する HEK293 細胞を TMP 型 PROTAC で処理し、ウエスタンブロット法により標的蛋白質の分解活性を評価した。その結果、TMP 型 PROTAC のリンカー長が長くなるにつれ、低濃度でより効果的に eDHFR-EGFP を分解することがわかった。

次に、TMP 構造を光制御可能な azoPyQM 誘導体置き換えた photoPROTAC の設計および合成を行った。photoPROTAC の光異性化を紫外可視分光法で評価したところ、394 nm と 560 nm の光を照射することで、それぞれ Z-体と E-体の比率が最も高くなることがわかった。さらに、eDHFR-EGFP 発現 HEK293 細胞に photoPROTAC を投与した後に光照射したところ、照射波長依存的に eDHFR-EGFP の分解を制御することができた。

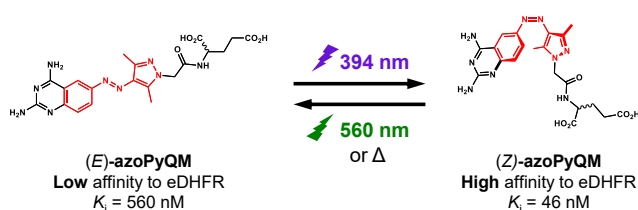


Figure 1. Structure and photoisomerization of azoPyQM.

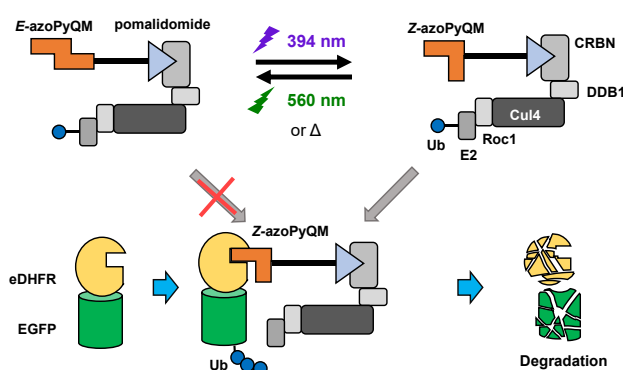


Figure 2. Schematic illustration of photo-controlled protein degradation using an azoPyQM-based photoPROTAC.

- 1) Sarkar, H. S.; Mashita, T.; Kowada, T.; Hamaguchi, S.; Sato, T.; Kasahara, K.; Matubayasi, N.; Matsui, T.; Mizukami, S. *ACS Chem. Biol.*, **2023**, *18*, 340.