

多機能化可能なフォトクロミック蛋白質二量化剤の開発

(東北大院生命¹・東北大多元研²) ○馬場 好花¹・小和田 俊行^{1,2}・水上 進^{1,2}

Development of a functionalizable photochromic protein dimerizer (¹ Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, ² Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University) ○Konoka Baba,¹ Toshiyuki Kowada,^{1,2} Shin Mizukami,^{1,2}

Cellular functions are spatiotemporally regulated by protein-protein interactions, post-translational modifications, and localization of proteins to specific subcellular compartments. Therefore, the development of technologies to precisely manipulate these processes contributes to understanding biological phenomena and disease mechanisms. For this purpose, the integration of photoresponsive molecules and imaging technologies offers a powerful approach for real-time monitoring and control of intracellular processes. We previously developed a photochromic CID system, capable of reversible dimerization and dissociation of intracellular proteins, achieving optical regulation of mitophagy induction.¹ This system utilizes a photochromic dimerizer, pcDH, consisting of a photochromic ligand that photoreversibly binds to *Escherichia coli* dihydrofolate reductase (eDHFR) and a covalent ligand for HaloTag. In this presentation, we report a novel protein dimerizer incorporating a tetrazine moiety, designed to introduce additional functionalities besides photoreversible regulation of protein dimerization. Furthermore, we discuss the intracellular functionalization of the photochromic dimerizer via inverse electron-demand Diels-Alder reaction, as well as the optical regulation of protein localization in living cells.

Keywords : Optical regulation, Protein dimerization, Click chemistry, Tetrazine

細胞機能は、蛋白質の翻訳後修飾や特定の細胞内区画への局在化、蛋白質間相互作用によって時空間的に制御されている。そのため、これらを精密に操作する技術の開発は、生体機能や疾患メカニズムの解明に貢献する。特に、光応答性分子とイメージング技術を組み合わせた手法は、細胞内現象をリアルタイムで可視化・操作するための強力なアプローチとなる。最近我々は、細胞内蛋白質の光可逆的な二量化と解離を操作可能な「フォトクロミック CID 法」を開発し、マイトファジーの光誘導を達成した¹⁾。この手法では、大腸菌ジヒドロ葉酸還元酵素 (eDHFR) に光可逆的に結合するフォトクロミックリガンドと、HaloTag リガンドを組み合わせた二量化剤 pcDH を用いることで、紫色光および緑色光の照射により eDHFR と HaloTag の二量化と解離を可逆的に制御することができる。本発表では、蛋白質二量化の制御に加え、新たな機能を付与することを目的としたテトラジン構造を有する新規蛋白質二量化剤について報告する。さらに、生細胞内における逆電子要請型 Diels-Alder 反応を介した光可逆的二量化剤の機能化と蛋白質局在の光制御に関する結果についても報告する。

1) T. Mashita, T. Kowada, H. Yamamoto, S. Hamaguchi, T. Sato, T. Matsui, S. Mizukami, *Nat. Chem. Biol.* **2024**, 20, 1461–1470.