

## 合成化合物の細胞内分解：酵素同定と一般性評価

(名工大院工<sup>1</sup>・基生研<sup>2</sup>・東大院薬<sup>3</sup>・東大院医<sup>4</sup>) ○田原 海<sup>1</sup>・中村 彰伸<sup>2</sup>・市橋 祐樹<sup>3</sup>・浦野 泰照<sup>3,4</sup>・小松 徹<sup>3</sup>・築地 真也<sup>1</sup>

Intracellular degradation of synthetic compounds: Protease identification and generality evaluation (<sup>1</sup>*Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology*, <sup>2</sup>*National Institute for Basic Biology*, <sup>3</sup>*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo*, <sup>4</sup>*Graduate School of Medicine, The University of Tokyo*) ○Kai Tahara,<sup>1</sup> Akinobu Nakamura,<sup>2</sup> Yuki Ichihashi,<sup>3</sup> Yasuteru Urano,<sup>3,4</sup> Toru Komatsu,<sup>3</sup> Shinya Tsukiji,<sup>1</sup>

Chemical tools such as chemical dimerizers are often prepared by linking two functional molecules (e.g. ligands) with a linker via an amide bond. Such synthetic compounds are generally thought to be stable in cells. However, we recently found that mgcTMP, a plasma membrane-targeted ligand we previously developed, undergoes degradation in cells. In this work, we first identified mgcTMP-degrading enzymes (proteases) by using a Diced Electrophoresis Gel (DEG) assay combined with peptide mass fingerprinting. We further tested several bifunctional compounds for possible cellular degradation to gain insights into the generality of intracellular degradation of synthetic compounds.

**Keywords:** *self-localizing ligand; plasma membrane; intracellular degradation; proteases*

生命化学やケミカルバイオロジーでは、合成小分子化合物を基盤とした化学ツールが広く利用されている。特定のタンパク質と結合する2種類の小分子リガンドを連結した化学二量化剤などはその代表例である。このような合成化合物は、2つの機能性分子(リガンド)をアミド結合を介してリンカーで連結する場合が多く、一般に細胞内での安定性については議論されない(合成化合物は細胞内で安定であるという前提で実験に使用される)。一方、当研究室では、特定のオルガネラ膜にアンカリングするモチーフと小分子リガンドとをリンカーを介して連結した「局在性リガンド」を創製している<sup>1)</sup>。その中で、細胞膜内膜を標的とした局在性リガンドである mgcTMP を以前に開発した。mgcTMP は、細胞内に発現させた大腸菌ジヒドロ葉酸還元酵素(eDHFR)の融合タンパク質を細胞質から細胞膜内膜へと局在移行誘導できる。しかし、この局在移行は一過的であり、mgcTMP によって細胞膜に移行した eDHFR 融合タンパク質はその後自発的にその局在が解消する(細胞質へ戻る)ことが明らかとなった<sup>2)</sup>。その後の解析の結果、mgcTMP は細胞によって分解を受けており、それが局在解消の原因であることを見出した<sup>2)</sup>。このような合成化合物の細胞内分解はこれまであまり知られておらず、どのような酵素(プロテアーゼ)が化合物の分解に関与し、どのような合成化合物が分解を受けやすいのか、といった知見はほとんどない。そこで本研究では、局在性リガンド mgcTMP の分解の責任酵素であるプロテアーゼを Diced Electrophoresis Gel (DEG) assay 法<sup>3)</sup>によって同定した。さらに、mgcTMP 以外の化合物についても細胞内分解の有無を解析することで、合成化合物の細胞内分解の一般性について評価した。本発表では、これまでに得られた結果について報告する。

1) M. Ishida et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 12684–12689. 2) A. Nakamura et al. *ACS Chem. Biol.*, **2020**, *15*, 837–843. 3) T. Komatsu et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 6002–6005.