

低分子リガンド-ユビキチンキメラを用いたタンパク質の間接的ユビキチン化法

(東大院工¹・東大先端研²) 宇野大輝¹・藤田涼香¹・古畑隆史¹・岡本晃充^{1,2}

Indirect Ubiquitination of Protein Using Small-Molecule Ligand - Ubiquitin chimeras (¹Graduate school of Engineering, The University of Tokyo, ²Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo) Taiki Uno¹, Ryoka Fujita¹, Takafumi Furuhashi¹, Akimitsu Okamoto^{1,2}

Recently, targeted protein degradation, represented by Proteolysis targeting chimera (PROTAC), has attracted much attention as a promising strategy for chemical knockdown of proteins once recognized as undruggable by hijacking a native ubiquitination system catalyzed by E3 ubiquitin ligases. PROTAC-based degradation is achieved by a chimeric molecule consisting of ligands directed to an E3 ligase and a target protein that facilitates their special proximation. However, PROTAC has several problems including limited efficacy to the cells with a low expression level of a target E3 ligase¹. Therefore, development of novel protein degradation system independent of E3 ligase activities would expand the scope of therapeutics. In this study, I propose indirect ubiquitination *via* ligand-protein interaction using a ligand-ubiquitin conjugate as a novel strategy that induces targeted protein degradation. Specifically, I focused on streptavidin (SA) as a model protein, and designed a chimeric molecule consisting of biotin and ubiquitin conjugated *via* ethylene diamine for its indirect ubiquitination. In order to demonstrate the targeted degradation of proteins by indirect ubiquitination, SA was non-covalently ubiquitinated *via* interaction with biotin, and the efficiency of proteasome-dependent degradation was evaluated.

Keyword : Indirect ubiquitination, protein degradation,

近年、タンパク質分解誘導キメラ (PROTAC) がユビキチン-プロテアソーム系を利用した強力なタンパク質ケミカルノックダウン戦略として注目を集めている。PROTACはE3リガーゼを「無理矢理」標的タンパク質に近づけることで、そのユビキチン化とそれに伴うプロテアソームによる認識と分解を誘導する。しかし、E3リガーゼの発現レベルの低い細胞における薬効低下などの課題を有している¹。従って、タンパク質や細胞に制限されない一般的タンパク質分解法の開発は、タンパク質分解手法の応用可能性の拡張と難治性疾患の治療に欠かせない喫緊の課題といえる。そこで本研究では、E3ユビキチンリガーゼ活性非依存的タンパク質標的分解手法として、間接的ユビキチン化法を試みる。具体的にはモデルタンパク質としてスト렙トアビジン (SA) に着目し、その間接的ユビキチン化に向けて、ビオチンとユビキチンを、エチレンジアミンを介して接合したキメラ分子を設計・合成した。また、間接的ユビキチン化によるタンパク質の標的分解の実証に向けて、ビオチンとの相互作用を介してSAを非共有結合的にユビキチン化し、プロテアソームによる分解効率を評価した。

1, *Nat. Chem. Biol.*, **2019**, *15*, 937-944.