

小分子応答性人工タンパク質集合体を用いた細胞操作システムの開発

(名工大院工) ○深谷 陽子・吉川 優・鈴木 祥央・築地 真也

Development of a cell manipulation system using chemically-responsive synthetic protein assemblies (*Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology*) ○Yoko Fukaya, Masaru Yoshikawa, Sachio Suzuki, Shinya Tsukiji

Chemogenetic control of designer proteins with small synthetic molecules is an emerging approach for chemical and synthetic biology. By combining synthetic protein assemblies and the rapamycin CID tool, we recently developed a chemogenetic system, termed SPREC-Out, which allows rapid protein activation upon addition of rapamycin. However, the SPREC-Out system was irreversible. In this study, we focused on LAMA, the trimethoprim (TMP)-responsive artificial antibody, and developed a novel TMP-responsive protein assembly system that can be used to control protein activation with controlled reversibility.

Keywords: chemogenetics, protein assembly, phase separation, chemically induced dimerization, protein inactivation

タンパク質を改変してその活性を小分子で操作する「化学遺伝学」は、細胞内生命現象の解明・制御に資する強力なツールとして注目を集めている。一方、小分子によって活性が切り替わる人工タンパク質の創製は今なお難しい。このような背景のもと、我々は、小分子によって標的タンパク質の隔離や放出が可能な人工タンパク質集合体「SPREC (synthetic protein-recruiting/-releasing condensates)」を考案した^{1,2)}。SPREC システムは、標的タンパク質の隔離により不活性化を、放出により活性化を誘導できる。特に、標的タンパク質の放出が可能な SPREC-Out システムは、さまざまなシグナル分子の活性化を素早く誘導する汎用的化学遺伝学ツールとしての利用が期待される。一方、第一世代システムは小分子ラパマイシンによる FKBP と FRB の二量化を利用していたため、標的タンパク質の可逆的な活性制御が困難であった。

そこで本研究では、可逆的な細胞内タンパク質活性操作が可能な新規小分子応答性人工タンパク質集合体の開発に取り組んだ。その戦略として、Johnsson らによって開発された LAMA³⁾に着目した。LAMA は、緑色蛍光タンパク質 (EGFP) に対するナノボディと円順列変異型ジヒドロ葉酸還元酵素からなるキメラタンパク質で、トリメトプリム (TMP) 非存在下では EGFP と結合し、TMP 存在下では解離する。そこで、第一世代 SPREC の設計を元に、LAMA を導入した人工タンパク質集合体を細胞内に構築したところ、初期状態では EGFP を内包・隔離し、TMP 添加によってそれを細胞質へ放出することが示された。また、TMP 添加と洗浄操作を交互に行うことで、EGFP の放出と隔離を可逆的に繰り返すことも可能であった。本発表では、LAMA 含有人工タンパク質集合体による可逆的なタンパク質制御とその応用について報告する。

1) M. Yoshikawa et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, 143, 6434. 2) M. Yoshikawa et al. *Biochemistry*, **2021**, 60, 3273. 3) H. Farrants et al. *Nat. Methods*, **2020**, 17, 279.