

タグ融合蛋白質の細胞内分解を光制御する機能性化合物の開発

(東北大多元研) ○松尾 章弘・小和田 俊行・Himadri S. Sarkar・松井 敏高・水上 進
Development of functional compounds for optical control of intracellular degradation of tag-fused proteins (*Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University*) ○Akihiro Matsuo, Toshiyuki Kowada, Himadri S. Sarkar, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami

Protein degraders (PROTACs), which consist of both a ligand linking an E3 ligase and a protein of interest (POI), have attracted attention as a selective knockdown tool for intracellular proteins. Optical control of PROTAC activity is expected to lead to the regulation of cellular functions and elucidation of the molecular mechanisms of biological phenomena by spatiotemporally modulating POI concentrations. We have developed photochromic inhibitors of *Escherichia coli* dihydrofolate reductase (eDHFR)^{1,2}, and we aimed to develop a photo-controlled proteolysis system.

To verify the induction of eDHFR degradation in cells, we designed and synthesized PROTACs by linking an eDHFR inhibitor, trimethoprim (TMP), and an E3 ligase ligand. The addition of TMP-based PROTACs to HEK293 cells expressing the eDHFR fused with a fluorescent protein showed the concentration-dependent degradation of POI, and the degradation efficiency was varied depending on the linker length. In this presentation, we also report the development of photo-controlled PROTACs with photochromic ligands.

Keywords : Protein degradation; eDHFR; Photo-switching; Photochromism

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、細胞内蛋白質の選択的ノックダウンツールとして注目されている。PROTAC 活性の光制御を実現できれば、標的蛋白質の時空間的な濃度調節を介して細胞機能の調節ならびに生命現象の分子機構の解明に繋がると期待できる。これまでに我々は大腸菌ジヒドロ葉酸還元酵素 (eDHFR) への結合を光制御可能なフォトクロミックリガンド^{1,2}を開発しており、このリガンドを PROTAC へ応用することによって蛋白質分解の光制御法の開発に取り組んでいる。

本研究ではまず eDHFR を標的とした細胞内分解誘導を検証するため、光応答性を持たない eDHFR リガンド (トリメトプリム) と E3 リガーゼのリガンドを連結した分解誘導剤を設計・合成した。eDHFR を融合した蛍光蛋白質を HEK293 細胞内で発現させ、トリメトプリム型 PROTAC を添加したところ、化合物濃度依存的な標的蛋白質の分解が確認された。さらに、リンカー長の違いによって分解効率が変化することも示された。発表では、フォトクロミックリガンドによる光制御可能な蛋白質分解誘導剤の開発についても報告する。

- 1) Mashita, T.; Kowada, T.; Takahashi, H.; Matsui, T.; Mizukami, S. *ChemBioChem* **2019**, *20*, 1382.
- 2) Sarkar, H.S.; Mashita, T.; Kowada, T.; Hamaguchi, S.; Sato, T.; Kasahara, K.; Matubayasi, N.; Matsui, T.; Mizukami, S. *ACS Chem. Biol.*, *in press*