

細胞機能を操作する人工相分離ツール

(名工大院工) ○築地 真也

Synthetic phase separation tools for manipulating cell function (¹Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology) ○Shinya Tsukiji

Compartmentation of proteins into biomolecular condensates or membraneless organelles formed by phase separation is an emerging principle for the regulation of cellular processes. Creating synthetic organelles that can accommodate specific intracellular proteins would provide a new approach for artificially manipulating signaling and biochemical processes in cells. In this presentation, I will report the construction of synthetic phase separation tools (synthetic protein condensates) capable of recruiting and/or releasing proteins of interest in living mammalian cells in response to a small molecule or light.

Keywords: *phase separation; synthetic protein condensate; chemogenetics; optogenetics; signal transduction*

細胞に新しい機能を付与することは合成生物学の大きな課題の一つである。生きた細胞内の特定のシグナル伝達や生化学プロセスを望みのタイミングで迅速に調節することのできる人工分子スイッチは、そのような合成生物学・細胞工学のための強力なツールとなる。そこで、近年、小分子や光といった外部刺激によって機能（活性・局在・分解など）を人為的に操作することのできる人工タンパク質の創製が盛んに行われるようになってきた。しかし、小分子や光によってコントロールできる人工タンパク質の創製には多くの試行錯誤を要し、また必ずしも成功するわけではない。そのため、合成生物学のさらなる発展のためには、さまざまなタンパク質の機能制御に応用できる汎用性の高いプラットフォームを拡張していく必要がある。

本研究では、細胞内に“人工メンブレンレスオルガネラ”を構築し、その内部に標的タンパク質を隔離するという原理に基づいた新しいタンパク質制御システムを考案した^{1,2)}。具体的にはまず、オリゴマーを形成するタンパク質を2種類タンデムに連結した人工タンパク質を設計した。これを動物細胞に発現させると、多点相互作用によって自己集合し、細胞内に人工オルガネラとなる相分離構造体（人工タンパク質コンデンセート）を構築することができた。さらに、この人工相分離タンパク質と化学誘導二量化法を組み合わせることで、特定の標的タンパク質を小分子の添加によって人工オルガネラに取り込むことのできるシステムを開発した。また、あらかじめ人工オルガネラ内に封入しておいた標的タンパク質を小分子添加や光によって細胞質に迅速に放出するシステムも開発した。これらのシステムを用いることで、細胞運動やRas/ERKシグナルを数分オーダーで切り替えることが可能であった。本発表では、最新のデータも紹介しつつ、合成生物学における人工相分離ツールの可能性と展望について議論したい。

1) M. Yoshikawa, T. Yoshii, M. Ikuta, S. Tsukiji, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 6434. 2) M. Yoshikawa, S. Tsukiji, *Biochemistry*. **2021**, *60*, 3273.