

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K05921

研究課題名(和文) タンパク質間相互作用を光制御する化学ツールの開発

研究課題名(英文) Development of chemical tools for photocontrol of protein-protein interaction

研究代表者

小和田 俊行 (Kowada, Toshiyuki)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号：40584397

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：生細胞内におけるタンパク質二量体化の光制御法の確立を目指した。まず、光解離性保護基を利用することでBL-tagに対するケージドタンパク質リガンドを開発し、細胞内で光照射依存的にタンパク質局在を変化させることに成功した。また、FKBP12(F36V)のフォトクロミックリガンド開発にも取り組み、細胞内でのタンパク質二量体形成の程度が光照射により変化することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内のタンパク質機能を人為的に操作する技術の開発が近年精力的に進められている。特に光を用いることで、時空間分解能の高い機能制御が可能になる。本研究で開発した光活性化型タンパク質二量化剤は、任意のタイミングで生細胞内のタンパク質間相互作用を光誘起可能である。本手法を用いて、今後、細胞内のシグナル伝達機構の詳細解析が促進され、疾患機構の解明につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：We aimed to establish photo-regulation techniques for protein dimerization in living cells. First, we developed a caged protein ligand for BL-tag by using a photolabile protecting group and succeeded in controlling the protein localization in a light irradiation-dependent manner in cells. We also developed a photochromic ligand for FKBP12(F36V) and found that the degree of protein dimer formation in the cell was changed by light irradiation.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：光制御 タンパク質二量体化 蛍光イメージング

### 1. 研究開始当初の背景

細胞内生体分子の局在を可視化するだけでなく、その機能を人為的に操作することにより複雑な生体システムを理解しようとする研究が世界中で進められている。その手法の一つが光感受性タンパク質 (CRY2 など) を用いた手法であり、標的タンパク質 (POI) と融合発現させることにより、光照射依存的な POIs の二量体形成制御が可能である (図 1)。しかし、光感受性タンパク質を用いる多くの場合において二量体の解消が熱的に進行するため、光による可逆的な機能制御が困難である。したがって、二量体の維持には連続光照射が必要であり、細胞への光毒性が問題となる。さらに、光感受性タンパク質のサイズが非常に大きい (70 kDa 以上) ため、融合発現させた POI の本来の機能が阻害されてしまう恐れがある。

生体分子機能の光制御に対する有機化学的アプローチとして、光分解性保護基で生理活性物質を不活性化状態 (ケージド化合物) にしておき、光照射による保護基の脱離 (脱ケージド) により生理活性を取り戻す、といった手法が広く採られている (図 2)。近年、ケージド化合物を利用したタンパク質二量体化法が相次いで報告されているが、そのほぼ全てにおいて非共有結合性のタグタンパク質が利用されており、未だ発展の余地がある。また、ケージド化合物を利用しているため、基本的には不可逆的な活性化手法であり、一過性の機能制御への利用に限られる。したがって、有機小分子を用いたタンパク質二量体化の可逆的な光制御法を創出することで、生体システムにより詳細な解析が可能になると期待される。

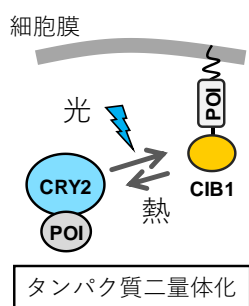


図 1. 光感受性タンパク質の二量体化。

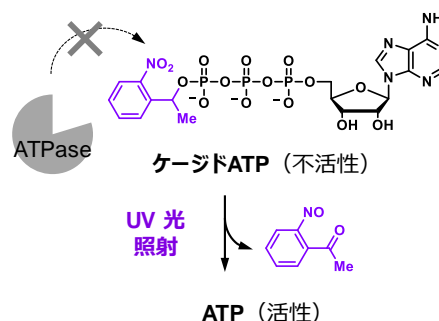


図 2. 光分解性保護基による活性制御。

### 2. 研究の目的

本研究では光応答性タグタンパク質リガンドを開発し、生細胞内におけるタンパク質二量体化の光制御法の確立を目指す。具体的には下記 2 項目に取り組む。

- (1) ケージドタンパク質二量体化剤の開発と共有結合型タンパク質二量体化システムの構築
- (2) フォトクロミックタンパク質二量体化剤の開発とタンパク質二量体化の可逆的な光制御法の開発

### 3. 研究の方法

#### (1) ケージドタンパク質二量体化剤の開発

現在までに報告されているケージドタンパク質二量体化では、タグタンパク質として非共有結合性の eDHFR が主に用いられている。リガンドタンパク質間が非共有結合で連結される場合、複合体の安定性はそれらの濃度に依存すると考えられる。一方、共有結合でリガンドタンパク質間を連結することで、細胞内局所の光照射により極低濃度の二量化剤のみが活性化される場合でも二量体は安定に存在することが可能となる。そのためのタグタンパク質として変異体  $\beta$  ラクタマーゼ (BL-tag) を選択し、そのリガンドである  $\beta$  ラクタム系抗生物質をケージド化合物へと誘導体化する。もう一方のタグタンパク質として、同様に共有結合性のラベル化が可能な HaloTag を利用する。したがって、分子の両端に HaloTag リガンド構造とケージド BL-tag リガンドを有する光活性化型タンパク質二量化剤を開発する。開発する二量体化剤を用いた生細胞内におけるタンパク質二量体化の光制御が可能かを検証するために、光照射依存的なタンパク質局在の変化を蛍光顕微鏡により観察する。

#### (2) フォトクロミックタンパク質二量体化剤の開発

フォトクロミックタンパク質二量体化剤の基盤となる、光可逆的なタンパク質ラベル化システムを構築するために、FK506 結合タンパク質 (FKBP12) に着目した。FKBP12 は 12 kDa という小さなタンパク質であり、免疫抑制剤ラパマイシンと強く結合する。さらに、SLF と呼ばれる FKBP12 に対する合成小分子リガンドも開発されており、タンパク質二量体化にも応用されている。本研究では、FKBP12 との結合・解離を可逆的に光制御可能な「光操作小分子プローブ」を開発するために、FKBP12 の合成小分子リガンドに対してアゾベンゼン骨格を導入する。これに

より、異なる2波長の光を用いることでタンパク質の二量体化を可逆的に制御可能であると考えられる。

#### 4. 研究成果

##### (1) ケージドタンパク質二量体化剤の開発

$\beta$ ラクタム系抗生物質であるアンピシリンはカルボキシ基を有しており、このカルボキシ基が $\beta$ ラクタマーゼとの複合体形成の際に水素結合形成などの重要な役割を果たしている。そのため、エステル体はBL-tagのラベル化速度が著しく遅いことが過去の研究で明らかにされている。そこで我々はこのカルボキシ基に光解離性保護基である1-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)ethyl (DMNPE)基を導入することで照射依存的にBL-tagのラベル化が可能になると期待した。

BL-tagのケージドリガンドとしてFPA-DMNPEを設計・合成した(図3a)。FPA-DMNPEは蛍光リガンドであり、DMNPE基でカルボキシ基が保護されたアンピシリンと緑色蛍光色素フルオレセインから構成されている。照射依存的なBL-tagのラベル化を検証するために、生細胞膜上にBL-tagと上皮成長因子受容体EGFRの融合タンパク質を発現させた。この細胞に対して事前に照射を行ったFPA-DMNPEの溶液、もしくは照射を行わなかった溶液を添加し、共焦点顕微鏡観察を行った。その結果、照射を行った溶液を添加した細胞の細胞膜から強い蛍光が観察された(図3b)。したがって、DMNPE基をアンピシリンのカルボキシ基に導入することで、BL-tagのケージドリガンドが開発できたと言える。

続いて、ケージドタンパク質二量体化剤へと展開するために、先に開発したケージドBL-tagリガンドとHaloTagリガンドを連結したCBHDを設計・合成した(図4a)。生細胞内でのタンパク質二量体化を検証するために、細胞質にBL-tagと緑色蛍光タンパク質の融合タンパク質BL-EGFP、細胞膜の細胞質側にHaloTagと赤色蛍光タンパク質の融合タンパク質Halo-mCherry-CAAXを発現させた。この細胞に対してCBHDを添加した後に共焦点顕微鏡観察を行った。観察開始後10分の段階で、顕微鏡の水銀灯を用いて10秒間の照射を行ったところ、細胞質全体に広がっていたBL-EGFPの蛍光シグナルが減少する一方で、細胞膜での蛍光シグナルが増加する様子が観察された(図4b)。照射を行わなかった場合は同様の現象が観察されなかったことから、生細胞内で照射依存的にBL-tagのラベル化が進行したことにより細胞膜上で二量体を形成したと考えられる。HaloTagが核に発現するコンストラクト(Halo-mCherry-NLS)を用いても同様にBL-EGFPの細胞質から核への移行が観察された。さらに、細胞破碎液をWestern blottingにより解析したところ、二量体の分子量に相当する位置からバンドが検出された。したがって、CBHDを用いることで細胞破碎後も安定に存在する共有結合性のタンパク質二量体を照射依存的に形成させることに成功した。CBHDによるタンパク質二量体形成は405 nmレーザーを用いることで細胞内局所でも光誘起可能であった(図4b)。今後、本技術を用いて細胞内シグナル伝達解析などの生命現象の詳細解析が可能になると期待される(研究成果: *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021)。

##### (2) フォトクロミックタンパク質二量体化剤の開発

フォトクロミックタンパク質二量体化剤の創出を目指し、FKBP12のF36V変異体に対するフォトクロミックリガンドの開発に取り組んだ。はじめに、FKBP12(F36V)の合成小分子リガンドSLF'に対してアゾベンゼン骨格を導入した化合物1を合成した。化合物1の光異性能を評価するために、紫外可視吸収スペクトル測定を行った(図5)。照射前は325 nmと440 nm付近にそれぞれ $\pi$ - $\pi$ \*遷移と $n$ - $\pi$ \*遷移に由来する吸収帯が観測された。330 nmの光を照射しながら

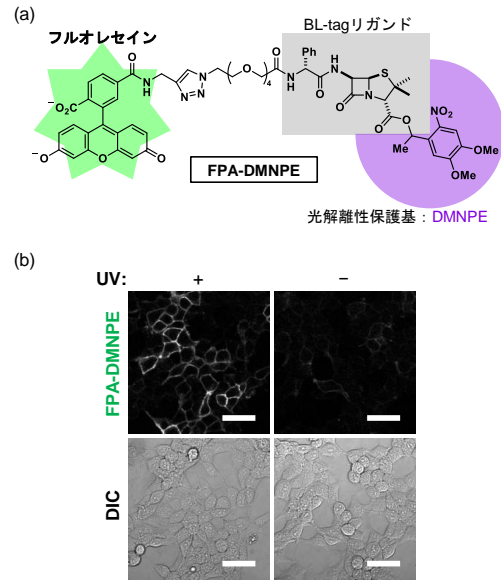


図3. (a) FPA-DMNPEの構造. (b) 細胞膜上のBL-EGFRをFPA-DMNPEでラベル化した共焦点顕微鏡画像.

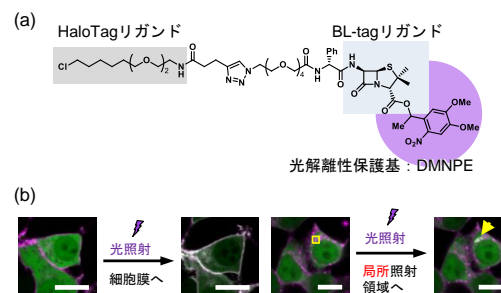


図4. (a) CBHDの構造. (b) 細胞膜上もしくは局所照射によるミトコンドリアへのBL-EGFPの移行の様子を観察した共焦点顕微鏡画像.

ら吸光度変化を経時的に観察したところ、325 nm 付近の吸収帯が徐々に減少し 430 nm 付近の吸収帯が上昇するという、典型的なアズベンゼンと同様の応答を示した。また、スペクトル変化は等吸収点を通過していることから、trans 体から cis 体への二状態間の変遷であると考えられる。その後、450 nm の光を照射しながら同様に吸収スペクトル変化を経時的に観察したところ、逆の変化が起こり、325 nm 付近の吸収帯が増加し、430 nm 付近の吸収帯が減少した。この時も等吸収点を通る変化を示した。したがって、cis 体から trans 体へと変化したと考えられる。この一連のスペクトル変化が可逆的に起こることも確認した。さらに光定常状態の吸収スペクトルを測定し、熱平衡状態において trans 体が 100% 存在するとして各光定常状態での trans 体/cis 体の存在比率を算出した。その結果、330 nm を照射した際に最も cis 体の存在比率が高い (87%) ことがわかった。一方で、450 nm の光を用いると 87% まで trans 体へと戻ることが可能であることが明らかとなった。

続いて、化合物 **1** を HaloTag リガンドと連結させた二量化剤 **2** を合成した。二量化剤 **2** の FKBP12(F36V) に対する結合親和性を評価するために、HaloTag と連結した後に蛍光標識 SLF' を用いて蛍光偏光測定を行った。その結果、**2** の  $K_d$  値は光照射前が 9.3 nM、光照射後が 32 nM であり、光照射によって FKBP12(F36V) への結合親和性を 3.4 倍変化させることができたことがわかった。

生細胞内でのタンパク質二量体化の光制御が可能か検証するために、HEK293T 細胞に FKBP12(F36V)-mCherry と Halo-EGFP-NLS を発現させ、二量化剤 **2** を添加した後に共焦点レーザー走査型顕微鏡でタンパク質局在の変化を観察した。二量化剤 **2** の添加前は、FKBP12(F36V)-mCherry 由来の赤色蛍光が細胞内全体から、Halo-EGFP-NLS の緑色蛍光が核から観察された。観察開始後 1 分の段階で二量化剤 **2** を添加したところ、徐々に赤色蛍光が核へと移行していく様子が見られた。一方、観察開始後 2 分の段階で UV 光照射を行ったところ、移行の割合が大幅に低下した (図 6)。今後、光照射条件などを最適化することによって、タンパク質二量体化の可逆的光制御法の確立を目指す。

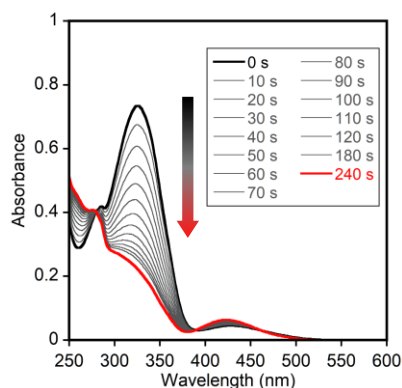


図 5. 化合物 **1** の UV 光 (330 nm) 照射時の吸光度変化の様子。

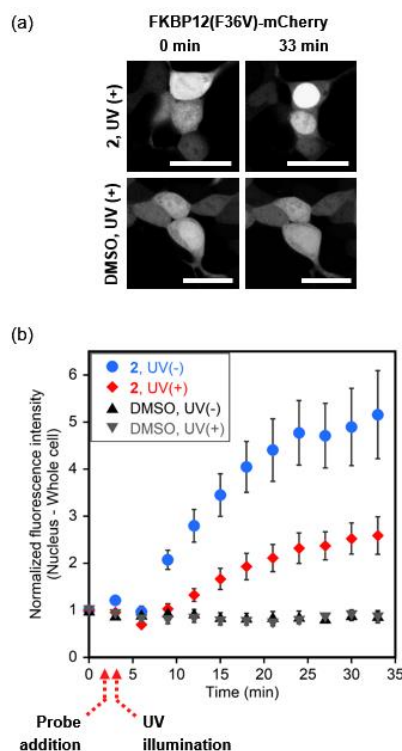


図 6. (a) 二量化剤 **2** 添加後の生細胞内における FKBP12(F36V)-mCherry の局在変化の様子。 (b) 核内の蛍光強度の時間変化。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mashita Takato, Kowada Toshiyuki, Takahashi Hiroto, Matsui Toshitaka, Mizukami Shin	4. 巻 20
2. 論文標題 Light Wavelength Based Quantitative Control of Dihydrofolate Reductase Activity by Using a Photochromic Isostere of an Inhibitor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 1382 ~ 1386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201800816	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kowada Toshiyuki, Arai Keisuke, Yoshimura Akimasa, Matsui Toshitaka, Kikuchi Kazuya, Mizukami Shin	4. 巻 60
2. 論文標題 Optical Manipulation of Subcellular Protein Translocation Using a Photoactivatable Covalent Labeling System	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 11378 ~ 11383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202016684	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kowada Toshiyuki, Watanabe Tomomi, Liu Rong, Mizukami Shin	4. 巻 2
2. 論文標題 Protocol for synthesis and use of a turn-on fluorescent probe for quantifying labile Zn <sup>2+</sup> in the Golgi apparatus in live cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 100395 ~ 100395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2021.100395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kowada Toshiyuki, Watanabe Tomomi, Amagai Yuta, Liu Rong, Yamada Momo, Takahashi Hiroto, Matsui Toshitaka, Inaba Kenji, Mizukami Shin	4. 巻 27
2. 論文標題 Quantitative Imaging of Labile Zn <sup>2+</sup> in the Golgi Apparatus Using a Localizable Small-Molecule Fluorescent Probe	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1521 ~ 1531.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chembiol.2020.09.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計32件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 小和田俊行
2. 発表標題 細胞機能を解き明かす機能性小分子蛍光プローブの合成
3. 学会等名 第8回化学フロンティア研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshiyuki Kowada
2. 発表標題 Design and synthesis of functional small-molecule probes for fluorescence imaging
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Bioimaging（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小和田俊行
2. 発表標題 細胞内オルガネラにおける遊離亜鉛濃度解析を目指した小分子蛍光プローブの開発
3. 学会等名 新学術領域研究「化学コミュニケーションのフロンティア」第4回若手シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 劉 熔, 小和田俊行, 渡邊朝美, 松井俊高, 水上 進
2. 発表標題 Quantitative imaging analysis of labile Zn <sup>2+</sup> in intracellular organelles via the development of hybrid fluorescent probe
3. 学会等名 理学・生命科学研究科合同シンポジウム 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 間下 貴斗, 小和田 俊行, SARKAR Himadri S., 高橋 泰人, 松井 敏高, 水上 進
2. 発表標題 光応答性タンパク質ラベル化リガンドの開発
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 劉 焜, 小和田 俊行, 渡邊 朝美, 松井 敏高, 水上 進
2. 発表標題 Quantitative Mapping of Cellular Labile Zn <sup>2+</sup> via Development of Hybrid Fluorescent Probes
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomomi Watanabe, Toshiyuki Kowada, Rong Liu, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Quantitative analysis of free zinc ion concentration in living cells using novel targetable fluorescent probe
3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC15) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takato Mashita, Toshiyuki Kowada, Hiroto Takahashi, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Development of photoswitchable compounds that selectively bind to Escherichia coli dihydrofolate reductase
3. 学会等名 Tohoku University's Chemistry Summer School 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rong Liu, Toshiyuki Kowada, Tomomi Watanabe, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Development of Fluorescent Probes for Visualization and Quantification of Zn <sup>2+</sup> in Organelles
3. 学会等名 Tohoku University's Chemistry Summer School 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takato Mashita, Toshiyuki Kowada, Hiroto Takahashi, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Development of photochromic ligands that enable photoreversible protein labeling
3. 学会等名 Chemical Biology and Physiology Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshiyuki Kowada, Tomomi Watanabe, Rong Liu, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Development of fluorescent probes for visualization and quantitative analysis of free zinc ion in intracellular organelles
3. 学会等名 Chemical Biology and Physiology Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間下貴斗, 小和田俊行, 高橋泰人, 松井敏高, 水上 進
2. 発表標題 光可逆的な蛋白質ラベル化技術を指向した機能性小分子の開発
3. 学会等名 生体機能関連化学部会若手の会 第31回サマースクール
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 小和田 俊行, 劉 熔, 渡邊 朝美, 松井 敏高, 水上 進
2. 発表標題 細胞内小器官における亜鉛イオン濃度解析のための蛍光プローブの開発
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間下 貴斗, 小和田 俊行, 高橋 泰人, 松井 敏高, 水上 進
2. 発表標題 光可逆的蛋白質ラベル化を可能とする生体直交性リガンドの開発
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 理志, 小和田 俊行, 荒井 啓介, 吉村 彰真, 松井 敏高, 菊地 和也, 水上 進
2. 発表標題 光活性化型タンパク質ラベル化技術を用いた生体分子の局在制御
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小和田俊行
2. 発表標題 生体機能解析に供する機能性小分子の開発と蛍光イメージング
3. 学会等名 平成30年度東日本分析化学若手交流会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 間下貴斗, 小和田俊行, 高橋泰人, 松井敏高, 水上 進
2. 発表標題 可逆的光応答性薬剤の開発
3. 学会等名 第29回 万有仙台シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takato Mashita, Toshiyuki Kowada, Hiroto Takahashi, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Photo-switchable Dihydrofolate Reductase (DHFR) Inhibitor
3. 学会等名 Tohoku University's Chemistry Summer School 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 間下貴斗, 小和田俊行, 高橋泰人, 松井敏高, 水上 進
2. 発表標題 光でタンパク質への結合を可逆的に制御可能なリガンドの開発
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Toshiyuki Kowada, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Development of light-switchable protein-protein interaction system for protein degradation
3. 学会等名 The 1st International Symposium on Chemical Communication (ISCC2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小和田俊行, 荒井啓介, 吉村彰真, 松井敏高, 菊地和也, 水上 進
2. 発表標題 蛋白質ラベル化技術を利用した蛋白質二量体化の光制御
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間下貴斗, 小和田俊行, 高橋泰人, 松井敏高, 水上 進
2. 発表標題 タンパク質への結合を可逆的に光制御可能なメトトレキセート誘導体の開発
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間下貴斗, 小和田俊行, 高橋泰人, 松井敏高, 水上進
2. 発表標題 生体機能解析応用を志向した光応答性化合物の合成と機能評価
3. 学会等名 日本化学会第98春季年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小和田俊行, 渡邊朝美, 天貝佑太, 劉 熔, 山田 桃, 高橋泰人, 松井敏高, 稲葉謙次, 水上 進
2. 発表標題 細胞小器官局在化蛍光プローブの開発と細胞内遊離亜鉛の定量イメージング
3. 学会等名 第29回日本バイオイメージング学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 天貝佑太, 山田桃, 渡邊朝美, 小和田俊行, 檜本悟史, 渡部聡, 経塚淳子, Roberto Sitia, 水上進, 稲葉謙次
2. 発表標題 哺乳動物細胞分泌経路における亜鉛調節とタンパク質品質管理
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kashfia Ahamed, Toshiyuki Kowada, Norihiko Sasaki, Shin Mizukami
2. 発表標題 細胞外スルファターゼ活性を検出する蛍光プローブの開発
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 劉 焯, 小和田俊行, 松井敏高, 水上進
2. 発表標題 Quantitative Mapping of Cellular Labile Zn <sup>2+</sup> via Development of Hybrid Fluorescent Probes
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 間下 貴斗, 小和田 俊行, Himadri S. SARKAR, 高橋 泰人, 松井 敏高, 水上 進
2. 発表標題 標的タンパク質への親和性を光制御可能なフォトクロミックリガンドの開発
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 劉 熔, 小和田 俊行, 松井 敏高, 水上 進
2. 発表標題 Quantitative Mapping of Organellar Labile Zn <sup>2+</sup> via the Development of Hybrid Fluorescent Probes
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 間下 貴斗, 小和田 俊行, SARKAR S. Himadri, 高橋 泰人, 松井 敏高, 水上 進
2. 発表標題 光可逆的な蛋白質ラベル化を可能とするリガンドの開発
3. 学会等名 第31回万有仙台シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ira Novianti, Toshiyuki Kowada, Shin Mizukami
2. 発表標題 Subcellular Labeling Performances of Tetrazine-trans-Cyclooctene Cycloadditions and Their Products
3. 学会等名 第20回東北大学多元物質科学研究所研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Himadri Sekhar Sarkar, Takato Mashita, Toshiyuki Kowada, Ming Ming Yem, Satoshi, Watanabe, Kenji Inaba, Toshitaka Matsui, Shin Mizukami
2. 発表標題 Escherichia coli dihydrofolate reductase-selective photoswitchable inhibitors enabling reversible optical control of protein labeling
3. 学会等名 第20回東北大学多元物質科学研究所研究発表会
4. 発表年 2020年

## 〔図書〕 計2件

1. 著者名 小和田俊行、水上 進（分担：第9章）	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 236（担当147-149）
3. 書名 イメージングの選び方・使い方100+（原田慶恵、永井健治 / 編）	

1. 著者名 Priya Ranjan Sahoo, Toshiyuki Kowada, Shin Mizukami (Chapter 20)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 447（担当237-243）
3. 書名 Live Cell Imaging: Methods and Protocols	

## 〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 光応答性化合物	発明者 水上 進、間下貴斗、小和田俊行、松井敏高	権利者 東北大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-165991	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

## 〔取得〕 計0件

## 〔その他〕

<p>プレスリリース：  (1) 東北大学多元物質科学研究所，“光と分子を使って生きた細胞内の蛋白質を自在に連結～疾患の分子機構解明につながるオプトケミカルジェネティクス～”，2021年4月8日  <a href="http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/news_press/20210408/">http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/news_press/20210408/</a></p> <p>(2) 東北大学多元物質科学研究所，“細胞小器官内の遊離亜鉛イオンの定量技術を開発～亜鉛の生理機能と関連疾患メカニズムの解明に期待～”，2020年9月30日  <a href="http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/news_press/20200930/">http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/news_press/20200930/</a></p> <p>ホームページ：  Researchmap  <a href="https://researchmap.jp/Toshiyuki_Kowada">https://researchmap.jp/Toshiyuki_Kowada</a>  水上研究室   東北大学多元物質科学研究所  <a href="http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/mizukami/">http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/mizukami/</a></p>
--

## 6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

## 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

## 〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------