

領域略称名：糖化学ノックイン
領域番号：21B201

科学研究費助成事業「学術変革領域研究（B）」
に係る研究成果報告書

「糖鎖ケミカルノックインが拓く膜動態制御」

領域設定期間

令和3年度～令和5年度

令和6年6月

領域代表者

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 材料・化学領域

触媒化学融合研究センター 研究チーム長

生長 幸之助

目次

1. 研究組織	2
2. 交付決定額	3
3. 研究領域の目的	4
4. 研究発表	5
5. 研究成果	14

1. 研究組織

■総括班■

課題番号: 21H05073

課題名: 糖鎖ケミカルノックインが拓く膜動態制御

研究代表者 生長 幸之助 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 研究チーム長)

研究分担者 堀 雄一郎 (九州大学 大学院理学研究院 教授)

研究分担者 真鍋 良幸 (大阪大学 大学院理学研究科 助教)

研究分担者 浅野 圭佑 (北海道大学 触媒科学研究所 准教授)

研究分担者 上田 善弘 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 主任研究員)

■計画研究■

(A01 班)

課題番号: 21H05074

課題名: 糖鎖・糖鎖修飾膜タンパク質を「つくる」ことによるタンパク質膜動態の可視化

研究代表者: 真鍋 良幸 (大阪大学 大学院理学研究科 助教)

(A02 班)

課題番号: 21H05075

課題名: 化学プローブで「みる」タンパク質膜動態の糖鎖制御

研究代表者: 堀 雄一郎 (九州大学 大学院理学研究院 教授)

課題番号: 21H05076

課題名: 糖鎖-タンパク質相互作用を「みる」ための光駆動リレー触媒反応

研究代表者: 浅野 圭佑 (北海道大学 触媒科学研究所 准教授)

(A03 班)

課題番号: 21H05077

課題名: 膜動態を「あやつる」ための膜タンパク質の化学的糖鎖修飾法

研究代表者: 生長 幸之助 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 研究チーム長)

研究分担者: 金井求 (東京大学大学院薬学系研究科 教授)、川島茂裕 (同 准教授)

課題番号: 21H05078

課題名: 膜動態を「あやつる」糖鎖ライブラリ多様化に向けた特定の糖選択的変換

研究代表者: 上田 善弘 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 主任研究員)

2. 交付決定額

全体

年度	合計	直接経費	間接経費
令和3年度	45,240千円	34,800千円	10,440千円
令和4年度	45,500千円	35,000千円	10,500千円
令和5年度	45,500千円	35,000千円	10,500千円
総計	136,240千円	104,800千円	31,440千円

(総括班)

年度	合計	直接経費	間接経費
令和3年度	21,840千円	16,800千円	5,040千円
令和4年度	1,820千円	1,400千円	420千円
令和5年度	1,820千円	1,400千円	420千円
総計	25,480千円	19,600千円	5,880千円

(A01班)

年度	合計	直接経費	間接経費
令和3年度	4,940千円	3,800千円	1,140千円
令和4年度	9,100千円	7,000千円	2,100千円
令和5年度	9,100千円	7,000千円	2,100千円
総計	23,140千円	17,800千円	5,340千円

(A02班)

年度	合計	直接経費	間接経費
令和3年度	8,970千円	6,900千円	2,070千円
令和4年度	16,380千円	12,600千円	3,780千円
令和5年度	16,380千円	12,600千円	3,780千円
総計	41,730千円	32,100千円	9,630千円

(A03班)

年度	合計	直接経費	間接経費
令和3年度	9,490千円	7,300千円	2,190千円
令和4年度	18,200千円	14,000千円	4,200千円
令和5年度	18,200千円	14,000千円	4,200千円
総計	45,890千円	35,300千円	10,590千円

3. 研究領域の目的

生体内における分子の適切な位置への配置は、その有効な機能に不可欠である。特に生体分子の「膜動態」は物質輸送、膜ラフト、シグナル伝達、細胞接着、細胞コミュニケーションなど多岐にわたり、生命の理解において重要である。膜タンパク質の動態はその機能に直結し、例えば細胞表面に存在することで外界の情報を受け取ることが可能となる。近年、エクソソームをはじめとする細胞外小胞（EV）を介して膜タンパク質が細胞間を移動することも明らかになっている。エクソソームは癌転移、免疫細胞の活性化、神経変性疾患などの生命現象や病態に関与し、癌診断や薬物送達系（DDS）への応用が期待される。また、糖鎖は細胞膜表面を覆うグリコカリックスの一部として、エンドサイトーシスやラフトへの移行、EV 取り込みなどの膜動態制御に関与する。特に糖鎖修飾はエンドサイトーシスの制御やエクソソームを介した細胞間移行の制御に深く関与し、低抗原性で安全性が高いため、生命科学ツールとしても理想的な特性を備える。

このような背景から、【糖鎖修飾により膜タンパク質の動態を制御することで、新たな生体機能制御法が実現可能になるのではないかと】との学術的「問い」を設定した。本領域ではこの「問い」に対し、反応化学研究と生命科学研究という、異なる専門分野の研究者が連携することで新しい融合領域研究を推進し、この解明につながる技術開発を狙った。より具体的には、高度な生体適合化学反応を用いて糖鎖を自在に膜タンパク質へ修飾する「糖鎖ケミカルノックイン」アプローチを生命研究に取り入れ、膜タンパク質の動態・相互作用を高精度に追跡可能とする化学標識法、糖鎖構造/修飾形式に依存した膜動態の変化を理解・制御する方法論の開発に挑む。これにより従来では為しえなかった精度にて糖タンパク膜動態の理解を進め、ひいてはその人為制御法へと導いていくことを目的とする研究を遂行した。

必要な技術開発を並行分担的に遂行するため、下記3班から成る研究組織を構成する。

・ A01：糖鎖修飾タンパク質を膜上で「つくる」

多彩な構造を有する均質糖鎖ライブラリの構築を行う。並行して、糖鎖構造に制限されない膜タンパク質への糖鎖連結法を開発する。

・ A02：化学プローブでタンパク質膜動態の糖鎖制御を「みる」

糖タンパク質の挙動と相互作用様式を追跡すべく、小サイズの生体適合触媒や極小タンパク質タグを用いたラベル化技術と、それを活用したタンパク質膜動態の追跡系を確立する。

・ A03：糖鎖修飾と外部刺激でタンパク質膜動態を「あやつる」

非天然型修飾基や刺激応答基を糖鎖へ精密導入する触媒的方法論を確立し、糖タンパク質の構造多様性を拡張する。エクソソーム上の膜タンパク質へと糖鎖修飾を施した膜タンパク質ライブラリを網羅的に調製し、膜動態との対応関係を綿密に調査する。また外部刺激による糖鎖構造を変化させることにより、膜動態の人為操作可能性を実証する。

4. 研究発表

■雑誌論文■

(A01 班)

1. Manabe, Y.; Gárate-Reyes, B.; Ito, K.; Hurtado-Guerrero, R.; Kabayama, K.; Fukase, K.; Synthesis and immunological evaluation of TLR1/2 ligand-conjugated RBDs as self-adjuvanting vaccine candidates against SARS-CoV-2. *Chem. Commun.* **2024**, *60*, 3946-3949.
2. Yano, K.; Yoshimoto, T.; Tsutsui, M.; Manabe, Y.; Fukase, K. Validation and Application of an Innovative Protective Group Concept: Enhancing Substrate Reactivity in Glycosylations by Disrupting Intermolecular Interactions. *Synlett* **2024**, *35*.
3. Carluccio, C. D.; Cerofolini, L.; Moreira, M.; Rosu, F.; Padilla-Cortés, L.; Gheorghita, G. R.; Xu, Z.; Santra, A.; Yu, H.; Yokoyama, S.; Gray, T. E.; St. Laurent, C. D.; Manabe, Y.; Chen, X.; Fukase, K.; Macauley, M. S.; Molinaro, A.; Li, T.; Bensing, B. A.; Marchetti, R.*; Gabelica, V.; Fragai, M.; Silipo, A. Molecular Insights into O-Linked Sialoglycans Recognition by the Siglec-Like SLBR-N (SLBR_{UB10712}) of *Streptococcus gordonii*. *ACS Cent. Sci.* **2024**, *10*, 447-459.
4. Manabe, Y.; Hizume, K.; Takakura, Y.; Takamatsu, S.; Miyoshi, E.; Kamada, Y.; Hurtado-Guerrero, R.; Fukase, K. Systematic Strategy for the Development of Glycosyltransferase Inhibitors: Diversity-Oriented Synthesis of FUT8 Inhibitors. *Synlett* **2024**, *35* DOI: 10.1055/a-2221-9096
5. Ito, K.; Furukawa, H.; Inaba, H.; Ohshima, S.; Kametani, Y.; Maeki, M.; Tokeshi, M.; Huang, X.; Kabayama, K.; Manabe, Y.; Fukase, K.; Matsuura, K. Antigen/Adjuvant-displaying Enveloped Viral Replica as a Self-adjuvanting Anti-breast-cancer Vaccine Candidate. *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*(29), 15838-15847.
6. Iizuka, Y.; Manabe, Y.; Ooe, K.; Toyoshima, A.; Yin, X.; Haba, H.; Kabayama, K.; Fukase, K. Exploring a Nuclear-Selective Radioisotope Delivery System for Efficient Targeted Alpha Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*(11), 9593.
7. Manabe, Y.; Iizuka, Y.; Yamamoto, Y.; Ito, K.; Hatano, K.; Kabayama, K.; Fukase, K. Improvement of Antibody Activity by Controlling Its Dynamics Using the Glycan-Lectin Interaction. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*(30), e202304779.
8. Milawati, H.; Manabe, Y.; Matsumoto, T.; Tsutsui, M.; Ueda, Y.; Miura, A.; Kabayama, K.; Fukase, K. Practical Antibody Recruiting by Metabolic Labeling with Caged Glycans. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*(25), e202303750.
9. Hirao, K.; Speciale, I.; Notaro, A.; Manabe, Y.; Teramoto, Y.; Sato T.; Atomi H.; Molinaro, A.; Ueda, Y.; Castro, C. D.; Fukase, K. Structural Determination and Chemical Synthesis of *N*-Glycan from the Hyperthermophilic Archaeon *Thermococcus kodakarensis*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*(13), e202218655.
10. Fukase, K.; Manabe, Y.; Shimoyama, A. Diacetyl strategy for synthesis of NHAc containing glycans: enhancing glycosylation reactivity via diacetyl imide protection. *Front. Chem.* **2023**, *11*, 1319883.
11. Manabe, Y. Chemical Glycan Editing Opens the Door to Understanding the Precise Structure-Function Relationships of Proteoglycans. *Trends in Glycosci. Glycotechnol.* **2023**, *35*(204), E29
12. Manabe, Y. Chemical Biology Study for Elucidating and Regulating Emergent Glycan Functions, *Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan* **2023**, *81*(2), 96-104.
13. Manabe, Y.; Fukase, K. Innovative Vaccine Strategy: Self-Adjuvanting Conjugate Vaccines. *Methods in Molecular Biology* **2023**, 55–72.
14. Tsutsui, Y.; Tanaka, D.; Manabe, Y.; Ikinaga, Y.; Yano, K.; Fukase, K.; Konishi, A.; Yasuda, M. Synthesis of Cage-

- Shaped Borates Bearing Pyrenylmethyl Groups: Efficient Lewis Acid Catalyst for Photoactivated Glycosylations Driven by Intramolecular Excimer Formation. *Chem. Eur. J.* **2022**, *28*, e202202284.
15. Manabe, Y.; Tsutsui, M.; Hirao, K.; Kobayashi, R.; Inaba, H.; Matsuura, K.; Yoshidome, D.; Kabayama, K.; Fukase, K. Mechanistic Studies for the Rational Design of Multivalent Glycodendrimers. *Chem. Eur. J.* **2022**, *28*, e202201848.
 16. Chang, T-C.; Manabe, Y.; Ito, K.; Yamamoto, R.; Kabayama, K.; Ohshima, S.; Kametani, Y.; Fujimoto, Y.; Lin, C-C; Fukase, K. Precise Immunological Evaluation Rationalizes the Design of a Self-adjuvanting Vaccine Composed of Glycan Antigen, TLR1/2 Ligand, and T-helper Cell Epitope. *RSC Adv.* **2022**, *12*, 18985-18993.
 17. Manabe, Y.; Matsumoto, T.; Ikinaga, Y.; Tsutsui, Y.; Sasaya, S.; Kadonaga, Y.; Konishi, A.; Yasuda, M.; Uto, T.; Dai, C.; Yano, K.; Shimoyama, A.; Matsuda, A.; Fukase, K. Revisiting Glycosylations Using Glycosyl Fluoride by BF₃·Et₂O: Activation of Disarmed Glycosyl Fluorides with High Catalytic Turnover. *Org. Lett.* **2022**, *24*, 6-10.
 18. 真鍋良幸, 液-液相分離を利用したタンパク質の細胞内送達, *ファルマシア*, **2022**, *58(6)*, 603.
 19. Manabe, Y. LYTAC: Membrane/Extracellular Protein Degradation. *Trends in Glycosci. Glycotechnol.* **2022**, *34(198)*, E35-E36.
 20. Carluccio, C.; Forgione, R. E.; Bosso, A.; Yokoyama, S.; Manabe, Y.; Pizzo, E.; Molinaro, A.; Fukase, K.; Fragai, M.; Bensing, B. A.; Marchetti, R.; Silipo A. Molecular recognition of sialoglycans by streptococcal Siglec-like adhesins: toward the shape of specific inhibitors. *RSC Chem. Biol.* **2021**, *2*, 1618-1630.
 21. Shirakawa, A.; Manabe, Y.; Marchetti, R.; Yano, K.; Masui, S.; Silipo, A.; Molinaro, A.; Fukase, K. Chemical Synthesis of Sialyl N-Glycans and Analysis of Their Recognition by Neuraminidase. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 24686-24693.

(A02 班)

1. Reja, S.I.; Hori, Y.; Kamikawa, T.; Yamasaki, K.; Nishiura, M.; Bull, S.D.; Kikuchi, K. An "OFF-ON-OFF" fluorescence protein-labeling probe for real-time visualization of the degradation of short-lived proteins in cellular systems. *Chem. Sci.* **2022**, *13*, 1419-1427.
2. Nishiura, M.; Hori, Y.; Umeno, M.; Kikuchi, K. Visualization of multiple localizations of GLUT4 by fluorescent probes of PYP-tag with designed unnatural warhead. *Chem. Sci.* **2023**, *14*, 5925-5935.
3. Torii, K.; Hori, Y.; Kikuchi, K. Persistent Fluorescence Switching of a Probe Using a Photochromic Quencher with High Photostability Assisted by Protein-Surface Modification. *Anal. Chem.* **2023**, *95*, 8834-8841.
4. 上川 拓也; 堀 雄一郎, タンパク質標識技術によるイメージング法の進展. *高分子* **2023**, *72(8)*, 379-381.
5. Torii, K.; Benson, S.; Hori, Y.; Vendrell, M.; Kikuchi, K. No-wash fluorogenic labeling of proteins for reversible photoswitching in live cells. *Chem. Sci.* **2024**, *15*, 1393-1401.
6. Reja, S.I.; Minoshima, M.; Hori, Y.; Kikuchi, K. Recent advancements of fluorescent biosensors using semisynthetic probes. *Biosens. Bioelectron.* **2024**, *247*, 115862.
7. Kamikawa, T.; Hashimoto, A.; Yamazaki, N.; Adachi, J.; Kikuchi, K.; Hori, Y. Bioisostere-conjugated fluorescent probes for live-cell protein imaging without non-specific organelle accumulation. *Chem. Sci.* **2024**, *15*, 8097-8105.
8. Murata, R.; Asano, K.; Matsubara, S. Catalytic Asymmetric Cycloetherification via Intramolecular Oxy-Michael Addition of Enols. *Tetrahedron* **2021**, *97*, 132381.
9. Nagano, T.; Matsumoto, A.; Yoshizaki, R.; Asano, K.; Matsubara, S. Non-enzymatic catalytic asymmetric cyanation of acylsilanes. *Commun. Chem.* **2022**, *5*, 45.
10. Asano, K.; Matsubara, S. Organocatalytic Access to Tetrasubstituted Chiral Carbons Integrating Functional Groups. *Chem. Rec.* **2023**, *23*, e202200200.
11. Murata, R.; Shitamichi, K.; Hiramatsu, M.; Matsubara, S.; Uruguchi, D.; Asano, K. *trans*-Cyclooctenes as Scavengers

of Bromine Involved in Catalytic Bromination. *Chem. Eur. J.* **2024**, *30*, e202303399.

- Murata, R.; Yoshida, R.; Uruguchi, D.; Asano, K. Synthesis of Substituted Cyclooctenes through Cross-Coupling Reactions. *Synlett* **2024**, *35*, in press (DOI: 10.1055/a-2330-0819).

(A03 班)

- Maruyama, K.; Ishiyama, T.; Seki, Y.; Sakai, K.; Togo, T.; Oisaki, K.; Kanai, M. Protein Modification at Tyrosine with Iminoxyl Radicals. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*(47), 19844-19855.
- Sakai, K.; Oisaki, K.; Kanai, M. A Germanium Catalyst Accelerates the Photoredox α -C(sp³)-H Alkylation of Primary Amines. *Org. Lett.* **2022**, *24*(18), 3325-3330.
- 清川 慎介; 安田 大輔; 生長 幸之助, 新たな機能性分子を合成する手法“クリックケミストリー”-2022年ノーベル化学賞によせて. *医学の歩み* **2022**, *283*(13), 1173-1175.
- 生長 幸之助; 浅野 圭佑; 上田 善弘, 有機触媒探索からの計画的セレンディピティ. *医学の歩み* **2022**, *282*(9), 23261-23263.
- Malawska, K.J.; Takano, S.; Oisaki, K.; Yanagisawa, H.; Kikkawa, M.; Tsukuda, T.; Kanai, M. Bioconjugation of Au₂₅ Nanocluster to Monoclonal Antibody at Tryptophan. *Bioconjugate Chem.* **2023**, *34*(4), 781-788.
- Tatsumi, T.; Sasamoto, K.; Matsumoto, T.; Hirano, R.; Oikawa, K.; Nakano, M.; Yoshida, M.; Oisaki, K.; Kanai, M. Practical N-to-C peptide synthesis with minimal protecting groups. *Commun. Chem.* **2023**, *6*(1), 231.
- 金井 求; 生長 幸之助; 豊邊 萌, レドックス活性を利用した抗体修飾と応用. *MEDCHEMNEWS* **2023**, *33*(1), 33-37.
- 生長 幸之助. 計画的偶発性マインドがもたらした研究キャリア. *有機合成化学協会誌* **2023**, *81*(4), 366-380.
- Hashimoto, H.; Ueda, Y.; Takasu, K.; Kawabata, T. Catalytic Substrate-Selective Silylation of Primary Alcohols via Remote Functional-Group Discrimination. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *61*, e202114118.
- Hashimoto, H.; Ueda, Y.; Fujimura, K.; Takasu, K.; Kawabata, T. Approach Toward Reversal of Chemoselectivity in Catalytic Silylation of Pyranosides. *Eur. J. Org. Chem.* **2022**, e202200949.
- Gondo, N.; Fujimura, K.; Hyakutake, R.; Ueda, Y.; Kawabata, T. Organocatalytic regio- and enantioselective vinylogous aza-Morita-Baylis-Hillman reaction. *Tetrahedron Lett.* **2023**, *115*, 154306.
- Hirao, K.; Speciale, I.; Notaro, A.; Manabe, Y.; Teramoto, Y.; Sato, T.; Atomi, H.; Molinaro, A.; Ueda, Y.; De Castro, C.; Fukase, K. Structural Determination and Chemical Synthesis of the N-Glycan from the Hyperthermophilic Archaeon *Thermococcus kodakarensis*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202218655.
- Milawati, H.; Manabe, Y.; Matsumoto, T.; Tsutsui, M.; Ueda, Y.; Miura, A.; Kabayama, K.; Fukase, K. Practical Antibody Recruiting by Metabolic Labeling with Caged Glycans. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303750.
- Fujimura, K.; Ueda, Y.; Yamaoka, Y.; Takasu, K.; Kawabata, T. Rotaxane Synthesis by an End-Capping Strategy via Swelling Axle-Phenols. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303078.

■学会発表■

(A01 班)

- Manabe, Y.; Milawati, H.; Sianturi, J.; Matsumoto, T.; Kabayama, K.; Fukase, K. “Development of novel cancer immunotherapy using antibody recruiting strategy.” International Joint Symposium 2023 on Synthetic Organic Chemistry, 2023.
- Manabe, Y.; Milawati, H.; Sianturi, J.; Matsumoto, T.; Kabayama, K.; Fukase, K. “Development of antibody recruiting strategy for novel cancer immunotherapy.” IKOC-15, 2023.
- 真鍋 良幸, “合成化学で挑む糖鎖機能の解明と制御.” 第96回日本生化学会大会, シンポジウム「ケミカ

ルバイオロジーが挑む生体分子の化学修飾」, 2023.

4. 真鍋 良幸, “精密合成で拓く糖鎖機能の解明と制御.” ヘテロ原子部会第 1 回懇話会 (2023 年), 2023.
5. Manabe, Y.; Fukase, K. “Development of Cancer Immunotherapy by Antibody Recruiting Using Antigen Glycans.” Gordon Research Conference (Carbohydrates), 2023.
6. Manabe, Y.; Miura, A.; Shirakawa, A.; Shomura, H.; Okamura, S.; Miyake, S.; Kabayama, K.; Suzuki, K.; Fukase, K. “Reconstruction of synthetic N-glycans on the living cell surface for their functional study.” Gordon Research Conference (Carbohydrates), 2023.
7. Manabe, Y.; Miura, A.; Shirakawa, A.; Shomura, H.; Okamura, S.; Miyake, S.; Kabayama, K.; Suzuki, K.; Fukase, K. “Synthetic Approach for Elucidating Cell Surface Glycan Functions.” 7th Gratama Workshop, 2023.
8. 真鍋 良幸 “合成化学的アプローチで迫る糖鎖修飾による膜タンパク質の動態制御.” 日本薬学会第 143 年会, シンポジウム「異分野融合で切り込む! 膜タンパク質の世界」, 2023.
9. 真鍋 良幸 “複合糖質中分子を用いたがん免疫療法の開発.” 日本薬学会第 143 年会, シンポジウム「中分子創薬研究のフロンティア-多種多彩な中分子創薬へのアプローチ-」, 2023.
10. 真鍋 良幸 “合成を基盤として糖鎖の高次機能に迫るケミカルバイオロジー研究.” 日本化学会第 102 春季年会, 若い世代の特別講演会, 2023.
11. 真鍋 良幸 “細胞表層糖鎖機能の開拓を目指したケミカルバイオロジー.” 第 35 回ケムステ V シンポ「有機合成が開く最先端糖化学」, 2022.
12. Manabe, Y. “Synthesis and chemical biology studies of N-glycans.” International Congress on Pure & Applied Chemistry (ICPAC 2022), 2022.
13. Manabe, Y. “Chemical synthesis and functional study of N-glycans.” 2022 Bilateral Symposium (School of Science, Osaka University and Genomics Research Center, Academia Sinica), 2022.
14. 真鍋 良幸 “精密糖鎖合成を基盤としたグリココード解読と利用.” 第 38 回有機合成化学セミナー, 2022.
15. 真鍋 良幸; 三浦 彩音; 三宅 秀斗; 鈴木 健一; 樺山 一哉; 深瀬 浩一 “合成生物学的アプローチによる細胞表層糖鎖ネットワークの解析.” 第 16 回バイオ関連化学シンポジウム, 2022.
16. 真鍋 良幸 “Elucidation and Regulation of Glycan Functions by Synthetic Chemistry.” A3 取りまとめシンポジウム, 2021.
17. 真鍋 良幸 “糖鎖の創発的な免疫調節機能に迫るケミカルバイオロジー研究.” 第 40 回日本糖質学会年会, 2021.
18. 真鍋 良幸; Marchetti, R.; 武部 智之; 笠原 里実; 高倉 陽平; 二瓶 渉; 田中 克典; 樺山 一哉; Silipo, A.; Molinaro, A.; 深瀬 浩一 “コアフコース含有 N-グリカンの機能解明・制御を目指したケミカルバイオロジー研究.” 第 15 回バイオ関連化学シンポジウム, 2021.

(A02 班)

1. Hori, Y.; Kikuchi, K. “Fluorescence Imaging of Endogenous Biomolecules Using Fluorogen/Protein Hybrid Probes.” Pacificchem 2021, 2021.
2. Hori, Y.; Nishiura, M.; Kikuchi, K. “Fluorescent Labeling Probes that Selectively Recognize Intracellular/Cell-Surface Proteins.” AIMECS 2021, 2021.
3. 橋本 明莉; 堀 雄一郎; 梅野 真帆; 菊地 和也 “タグタンパク質 PYP をラベル化する非天然リガンドの開発とイメージング.” 日本化学会第 102 春季年会, 2022.
4. 上川 拓也; 堀 雄一郎; 野村 佳祐; 松木 星; 菊地 和也 “RNA のメチル化修飾を蛍光検出する合成色素/タンパク質ハイブリッドプローブの開発.” 日本化学会第 102 春季年会, 2022.
5. 鳥井 健司; 堀 雄一郎; 菊地 和也 “細胞内イメージングのためのフルギミドを用いた光スイッチング蛍

- 光分子の開発.” 日本化学会第 102 春季年会, 2022.
6. 寺下 功一郎; 堀 雄一郎; 菊地 和也 “膜タンパク質相互作用解析のための PYP タグビオチン化プローブの開発.” 日本化学会第 102 春季年会, 2022.
 7. 堀 雄一郎 “合成蛍光分子とタンパク質を駆使した生体分子イメージング.” 医用分光学会第 20 回年会, 2022.
 8. 鳥井 健司; Benson, S.; Vendrell, M.; 堀 雄一郎; 菊地 和也 “フルギミドを用いた光応答性発蛍光プローブの開発.” 日本化学会第 103 春季年会, 2023.
 9. 上川 拓也; 菊地 和也; 堀 雄一郎 “バイオイソスターを用いたオルガネラ集積抑制法によるタンパク質ラベル化プローブの開発.” 日本化学会第 103 春季年会, 2023.
 10. 堀 雄一郎 “タンパク質の多重局在を可視化するタンパク質ラベル化技術.” 日本薬学会第 143 年会, 2023.
 11. 堀 雄一郎; 福田 溪太; 菊地 和也 “pH 変化とタンパク質分解を可視化するマルチスイッチ型蛍光プローブの開発.” 日本ケミカルバイオロジー学会第 17 回年会, 2023.
 12. 堀 雄一郎 “ラベル化ケミストリーによる膜タンパク質の多重局在の可視化.” 蛋白質科学会第 23 回年会, 2023.
 13. 堀 雄一郎 “タンパク質・核酸の化学修飾を可視化するタグ・蛍光プローブ技術.” 第 96 回生化学会大会, 2023.
 14. 鳥井 健司; Benson, S.; Vendrell, M.; 堀 雄一郎; 菊地 和也 “無洗浄生細胞イメージングが可能な光スイッチング蛍光分子の開発.” 日本化学会第 104 春季年会, 2024.
 15. 上川 拓也; 橋本 明莉; 山崎 のぞみ; 足立 惇弥; 菊地 和也; 堀 雄一郎 “生細胞イメージングのための疎水性バイオイソスター結合型蛍光プローブの開発.” 日本化学会第 104 春季年会, 2024.
 16. 御手洗 拓真; 足立 惇弥; 寺下 功一郎; 菊地 和也; 堀 雄一郎 “GLUT4 相互作用タンパク質検出を目的としたビオチン化プローブと基質の開発.” 日本化学会第 104 春季年会, 2024.
 17. 太田 航司郎; 足立 惇弥; Gao, J.; 菊地 和也; 堀 雄一郎 “PYPタグの新規リガンドを用いたOFF-ON-OFF型蛍光プローブの開発とタンパク質分解可視化への応用.” 日本化学会第104春季年会, 2024.
 18. 浅野 圭佑 “多点活性化有機触媒による選択的反応.” 第1回若手重水素研究会, 2021.
 19. Nagano, T.; Asano, K.; Matsubara, S. “Carbon–Carbon Double Bonds as Catalytic Sites for Selective Organocatalysts.” 第12回大津会議 Otsu Conference 2021—有機合成の夢を語る—, 2021.
 20. 長野 倫; 浅野 圭佑; 松原 誠二郎 “二官能性トランスシクロオクテン触媒によるハロラクトン化反応.” 第50回複素環化学討論会, 2021.
 21. Asano, K. “Organocatalytic Access to Tetrasubstituted Chiral Carbons Integrating Functional Groups.” The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021), 2021.
 22. Murata, R.; Matsumoto, A.; Asano, K.; Matsubara, S. “Desymmetrization of gem-Diols via Enantio- and Diastereoselective Cycloetherification Using Bifunctional Organocatalysts.” The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021), 2021.
 23. Nagano, T.; Einaru, S.; Shitamichi, K.; Asano, K.; Matsubara, S. “Design of Chiral trans-Cyclooctene Ligands in Rhodium-Catalyzed 1,4-Addition.” The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021), 2021.
 24. 浅野 圭佑 “炭素-炭素二重結合の有機触媒機能開拓.” 第24回ケムステVシンポ「次世代有機触媒」, 2022.
 25. 島津 拓斗; 長野 倫; 浅野 圭佑; 松原 誠二郎 “光駆動二官能性シクロオクテン触媒の開発.” 日本化学会第102春季年会 (2022) , 2022.
 26. 坂口 莉久; 島津 拓斗; 長野 倫; 浅野 圭佑; 松原 誠二郎 “シクロオクテン触媒による芳香族臭素化反応.” 日本化学会 第102春季年会 (2022) , 2022.

27. 吉田 楽人; 長野 倫; 村田 竜一; 浅野 圭佑; 松原 誠二郎 “生体適合触媒反応を指向した臭素化剤の開発.” 日本化学会 第102春季年会 (2022) , 2022.
28. Murata, R.; Asano, K.; Matsubara, S. “Deceleration of Halogenation with *trans*-Cyclooctene Derivatives.” 日本化学会 第102春季年会 (2022) , 2022.
29. Nagano, T.; Asano, K.; Matsubara, S. “Development of Bifunctional Cyclooctene Catalysts.” 日本化学会 第102春季年会 (2022) , 2022.
30. 徳山 大弥; 浅野 圭佑; 松原 誠二郎 “フッ化物イオンの系内生成を利用した触媒的トリハロメチル化反応.” 日本化学会 第102春季年会 (2022) , 2022.
31. 浅野 圭佑 “有機触媒に特有の速度論を活かした精密有機合成反応.” 第440回触媒科学研究所コロキウム, 2022.
32. Sakaguchi, R.; Shimazu, T.; Nagano, T.; Matsubara, S.; Asano, K.; Uruguchi, D. “Bromination of Phenol Derivatives Using Cyclooctene Catalysts.” Post Symposium of TOCAT9, 60th Aurora seminar, The 9th International Symposium of Institute for Catalysis, 2022.
33. Yoshida, R.; Nagao, T.; Murata, R.; Matsubara, S.; Asano, K.; Uruguchi, D. “Development of Biocompatible Brominating Reagents.” Post Symposium of TOCAT9, 60th Aurora seminar, The 9th International Symposium of Institute for Catalysis, 2022.
34. 浅野 圭佑 “有機触媒の速度論を活かした反応制御.” 第5回有機化学学生ウェビナー, 2022.
35. 長野 倫; 坂口 莉久; 松原 誠二郎; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “二官能性シクロオクテン触媒によるハロゲン化反応.” 第25回ヨウ素学会シンポジウム, 2022.
36. 吉田 楽人; 長野 倫; 村田 竜一; 松原 誠二郎; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “生体適合反応を指向したハロゲン化剤の開発.” 第25回ヨウ素学会シンポジウム, 2022.
37. 吉田 楽人; 長野 倫; 村田 竜一; 松原 誠二郎; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “生体適合触媒反応を指向した臭素化剤の開発.” 第38回有機合成化学セミナー, 2022.
38. 村田 竜一; 下道 謙太; 平松 将嗣; 松原 誠二郎; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “トランスシクロオクテン-ブロモニウム錯体の単離と有機合成への利用.” 第34回万有札幌シンポジウム, 2022.
39. 浅野 圭佑 “オレフィンを利用した二官能性有機触媒.” 第15回有機触媒シンポジウム (招待講演) , 2022.
40. 坂口 莉久; 島津 拓斗; 吉田 楽人; 長野 倫; 松原 誠二郎; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “シクロオクテン触媒による芳香族臭素化を利用したチロシン修飾.” 学際統合物質科学研究機構 (IRCCS) 成果報告会・産学ワークショップ, 2023.
41. 吉田 楽人; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “光駆動臭素化剤によるチロシン修飾.” 日本化学会 第103春季年会 (2023) , 2023.
42. Nagano, T.; Asano, K.; Uruguchi, D. “Development of Visible Light-Gated Bifunctional Cyclooctene Catalysts.” 日本化学会 第103春季年会 (2023) , 2023.
43. 吉田 楽人; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “生体適合化学を指向した臭素化剤BODNの開発.” 第35回万有札幌シンポジウム, 2023.
44. Yoshida, R.; Asano, K.; Uruguchi, D. “Brominating Reagents for Photocatalytic Tyrosine Modification.” ICAT International Symposium on Catalysis 2023 (国際学会) , 2023.
45. Sakaguchi, R.; Shimazu, T.; Yoshida, R.; Nagano, T.; Matsubara, S.; Asano, K.; Uruguchi, D. “Aromatic Bromination with Cyclooctene Catalysts for Tyrosine Modification.” ICAT International Symposium on Catalysis 2023 (国際学会) , 2023.
46. Murata, R.; Shitamichi, K.; Hiramatsu, M.; Matsubara, S.; Uruguchi, D.; Asano, K. “*trans*-Cyclooctenes as Inhibitors and Probes of Bromine-Involved Reaction Pathways in Bromocyclization.” ICAT International Symposium on

Catalysis 2023 (国際学会), 2023.

47. 吉田 楽人; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “臭素化によるチロシン標識を指向した光触媒反応系の開発.” 第61回オーロラセミナー, 2023.
48. 吉田 楽人; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “臭素化による生体分子標識技術の実現を指向した反応ツールの開発.” 第9回北大・部局横断シンポジウム, 2023.
49. 村田 竜一; 下道 謙太; 平松 将嗣; 松原 誠二郎; 浦口 大輔; 浅野 圭佑 “触媒反応のバックグラウンド経路を抑制する添加剤の開発.” 第9回北大・部局横断シンポジウム, 2023.
50. 吉田 楽人; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “触媒的チロシン修飾のための臭素化剤BODNの開発.” 第52回複素環化学討論会, 2023.
51. Yoshida, R.; Asano, K.; Uruguchi, D. “BODNs as Biocompatible Brominating Reagents.” The 15th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-15) (国際学会), 2023.
52. 浅野 圭佑 “選択的触媒反応空間を拡張する反応ツールの創製.” 学際統合物質科学研究機構 (IRCCS) 成果報告会・産学ワークショップ (招待講演), 2024.
53. 吉田 楽人; 堀 雄一郎; 浅野 圭佑; 浦口 大輔 “光化学的チロシン修飾のための臭素化剤BODNの開発.” 学際統合物質科学研究機構 (IRCCS) 成果報告会・産学ワークショップ, 2024.
54. Murata, R.; Shitamichi, K.; Hiramatsu, M.; Matsubara, S.; Uruguchi, D.; Asano, K. “*trans*-Cyclooctenes as Scavengers of Bromine Involved in Catalytic Bromination.” 日本化学会 第104春季年会 (2024), 2024.

(A03 班)

1. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 東北大学薬学部, 2022.
2. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 神戸大学理学部, 2022.
3. 生長 幸之助; 丸山 勝矢; 石山 隆史; 関 陽平; 坂井 健太郎; 藤後 貴也; 金井 求 “イミノキシラジカルを用いるチロシン選択的タンパク質修飾法.” 第39回メディシナルケミストリーシンポジウム, 日本薬学会医薬化学部会, 2022.
4. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 徳島大学薬学部, 2022.
5. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 野口遵研究助成金講演会, 2023.
6. 生長 幸之助 “電気化学的なトリプトファン選択的タンパク質化学修飾法.” 電気化学会第90回大会, 電気化学会, 2023.
7. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 第6回食・触コンソーシアムシンポジウム, 生物資源と触媒技術に基づく食・薬・材創生コンソーシアム, 2023.
8. 生長 幸之助; Malawska, K.J.; Takano, S.; Yanagisawa, H.; Kikkawa, M.; Tsukuda, T.; Kanai, M. “抗体トリプトファンに対する金25核ナノクラスター修飾反応.” 日本ケミカルバイオロジー学会 第17回年会, 日本ケミカルバイオロジー学会, 2023.
9. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 京都薬科大学, 2023.
10. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 名古屋大学 創薬科学研究科, 2023.
11. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 第53回天然物化学談話会, 2023.
12. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 蛋白質科学会ワークショップ「反応化学の目からタンパク質を理解し、制御する」, 2023.
13. 生長 幸之助 “タンパク質の化学アップグレード法.” 鳥取大学工学部, 2023.
14. Malawska, K.J.; Takano, S.; Oisaki, K.; Yanagisawa, H.; Kikkawa, M.; Tsukuda, T.; Kanai, M. “Bioconjugation of Au₂₅ Nanocluster to Monoclonal Antibody at Tryptophan.” XI Konwersatorium Chemii Medycznej, Polish Society of Medical Chemistry, 2023.

15. Tatsumi, T.; Sasamoto, K.; Oikawa, K.; Hirano, R.; Matsumoto, T.; Nakano, M.; Yoshida, M.; Oisaki, K.; Kanai, M. "Protecting Group-Minimized Peptide Synthesis Using Peptide Thioacid." 13th International Peptide Symposium/15th Australian Peptide Conference (IPS2023), ASN Events Pty Ltd, 2023.
16. Oisaki, K. "Chemical Upgrading of Proteins." University of Queensland, 2023.
17. Oisaki, K. "Chemical Upgrading of Proteins." University of Melbourne, 2023.
18. 生長 幸之助 "「タンパク質の化学アップグレード法」に至るまでの合成化学者奮闘記." 東京農工大学, 2023.
19. Oisaki, K. "Chemical Upgrading of Peptides and Proteins." Open T-LSI Seminar, T-LSI program, 2023.
20. 巽 俊文; 笹本 晃生; 及川 和輝; 平野 遼; 松本 拓也; 中野 真人; 吉田 勝; 生長 幸之助; 金井 求 "ペプチドチオ酸カップリング伸長反応." 第 49 回反応と合成の進歩シンポジウム, 日本薬学会化学系薬学部会, 2023.
21. 生長 幸之助; Malawska, K.J.; Takano, S.; Yanagisawa, H.; Kikkawa, M.; Tsukuda, T.; Kanai, M. "抗体トリプトファンに対する金 25 核ナノクラスター修飾反応." 第 40 回メディシナルケミストリーシンポジウム, 2023.
22. 生長 幸之助 "タンパク質の化学アップグレード法." 第 46 回日本分子生物学会年会, 日本分子生物学会, 2023.
23. 橋本 悠; 吉田 圭佑; 今吉 亜由美; 森崎 一宏; 上田 善弘; 川端 猛夫, "官能基間距離識別シリル化による長鎖ジオールの触媒的遠隔位不斉非対称化" 第 119 回有機合成シンポジウム, 2021.
24. Ueda, Y.; Hashimoto, H.; Kawabata, T. Catalytic Silylative Discrimination of Primary Alcohols via Remote Functional Group Recognition." 13th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 2021), 2021.
25. 上田 善弘 "位置選択的官能基化を基盤とした糖関連天然物の合成." 第 24 回ケムステ V シンポ「次世代有機触媒」, 2022.
26. 上田 善弘 "糖鎖ライブラリ多様化に向けた特定の糖選択的変換." 超異分野学会 東京大会 2022, 2022.
27. 上田 善弘; 橋本 悠; 高須 清誠; 川端 猛夫 "遠隔位官能基認識に基づく第一級アルコールの触媒的基質選択的シリル化." 日本薬学会第 142 年会, 2022.
28. 藤村 光揮; 上田 善弘; 山岡 庸介; 高須 清誠; 川端 猛夫 "擬ロタキサンの芳香族ハロゲン化によるロタキサン合成." 第 15 回有機触媒シンポジウム, 2022.
29. 上田 善弘; 橋本 悠; 高須 清誠; 川端 猛夫 "構造の類似した第一級アルコールの触媒的基質選択的シリル化." 第 64 回天然有機化合物討論会, 2022.
30. 藤村 光揮; 上田 善弘; 山岡 庸介; 高須 清誠; 川端 猛夫 "軸成分ハロゲン化によるロタキサン合成法の開発." 第 48 回反応と合成の進歩シンポジウム, 2022.
31. Ueda, Y.; Shibayama, H.; Kawabata, T. "Seven-Step Stereodivergent Total Syntheses of Punicafolin and Macaranganin." The 15th International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia, 2022.
32. 上田 善弘 "水酸基識別型分子変換." 第 56 回天然物化学談話会, 2023.
33. 藤村 光揮; 上田 善弘; 山岡 庸介; 高須 清誠; 川端 猛夫 "軸成分フェノールの触媒的臭素化によるロタキサン合成." 第 20 回ホスト-ゲスト・超分子化学シンポジウム, 2023.
34. Ueda, Y.; Fujimura, K.; Takasu, K.; Kawabata, T. "Brominative Rotaxane Synthesis for Derivatizable and Degradable Rotaxane." MRM2023/IUMRS-ICA2023, 2023.
35. Fujimura, K.; Ueda, Y.; Yamaoka, Y.; Takasu, K.; Kawabata, T. "Rotaxane Synthesis by Catalytic Bromination of Axle Phenols." The 15th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-15), 2023.
36. 藤村 光揮; 上田 善弘; 山岡 庸介; 高須 清誠; 川端 猛夫 "軸成分の触媒的臭素化によるロタキサンエンドキャップ形成." 第 52 回複素環化学討論会, 2023.

■図書■

なし

■産業財産権■

なし

■参考 URL■

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-ORGANIZER-21H05073/>

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PLANNED-21H05074/>

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PLANNED-21H05075/>

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PLANNED-21H05076/>

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PLANNED-21H05077/>

<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PLANNED-21H05078/>

5. 研究成果

本領域では、A01「つくる」班、A02「みる」班、A03「あやつる」班の3つの班が密に連携し、革新的なタンパク質膜動態の解析技術の確立を目指し研究をおこなった。A01「つくる」班では、糖鎖ライブラリの網羅的合成と、生体適合反応を用いる膜タンパク質への糖鎖修飾法の開発に取り組んだ。A02「みる」班では、化学プローブを用いた糖鎖修飾膜タンパク質の動態可視化研究を進めた。A03班では刺激応答部位を持つ糖鎖構造を調製し、それを化学修飾した膜タンパク質を用いることで、膜動態の制御を目指す研究を行った。

本領域の計画班メンバーは、反応化学および生体関連化学の異分野専門家であるが、糖鎖修飾技術を基盤とするタンパク質膜動態制御技術の創出という共通目標を掲げて叡智を結集させ、密なコミュニケーションを持ち、有機的な連携を実現することができた。その結果、各班の研究成果は領域全体の研究を大きく進展させ、多数の論文報告や学会発表を行うことができた。また、領域内外の研究者と共同研究を積極的に推し進め、新たな融合研究の発展に至った。計画班メンバーの昇任・独立や受賞が多数達成されていることから、若手研究者育成という観点でも十分な貢献を果たしたと評価でき、学術変革領域研究（B）の活動として十分な成果を達成したと考えている。

総括班、各計画班の具体的な成果については、次頁以降に詳述する。

5-1. 総括班

課題番号: 21H05073

課題名: 糖鎖ケミカルノックインが拓く膜動態制御

研究代表者 生長 幸之助 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 研究チーム長)

研究分担者 堀 雄一郎 (九州大学 大学院理学研究院 教授)

研究分担者 真鍋 良幸 (大阪大学 大学院理学研究科 助教)

研究分担者 浅野 圭佑 (北海道大学 触媒科学研究所 准教授)

研究分担者 上田 善弘 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 主任研究員)

5-1-1. 総括班の目的と方法

総括班は計画班員5名で構成される。課題に必須となる反応化学と生命科学を融合させる「場の形成」を念頭におき、周辺分野への知的/人的ネットワークの拡張をも見据えた運営に注力する。領域の目標と方針を班員に周知徹底し、班員の研究と領域目標との整合性を管理するとともに、共同研究・広報・企画・事務に関する支援を行う。研究成果はプレスリリース・ニュースレターなどを所属機関・研究室のホームページに掲載することで積極的に社会・国民に発信する。また、公開シンポジウムなど、研究内容を分かりやすく説明する活動や、領域外研究者との連携企画なども行い、領域研究の範囲を超えた融合を進めていく。

5-1-2. 成果

(1) 領域会議・勉強会の実施

領域研究開始直後にはキックオフミーティング、1年経過後には中間報告会、研究期間終了時には最終成果報告会をそれぞれ開催し、計画班員の個別研究と、領域融合研究の進捗を各班員が報告することで、着実な研究進捗と今後の方針について理解と議論を深めた。また同席する評価班員4名からメンタリングを受け、展開性の大きな研究推進戦略、研究成果のアピール方針、より大規模な学術変革領域への発展などについて、有益なアドバイスを頂いた。

その他にも、研究期間中の細かな方針確認・調整を目的に、総括班所属研究者5名による領域内打ち合わせを定例開催した(2~3ヶ月に1回程度、研究期間内で12回実施)。感染症リスクや班員所属地が遠隔であることに配慮し、原則としてオンラインで実施した。この機会と併せて、領域研究に関連するトピックの総説記事を要約して紹介する「領域内勉強会」を実施し、分野の将来像について、専門性の異なる班員間での知識共有・理解増進・議論促進に努めた。作成した資料は共用オンラインストレージに保管し、常時参照できる形で共有知的資産としている。

(2) 学術変革領域共催セミナー・シンポジウムの開催

学術成果を発信するため、国内・国際学会において班員個別で積極的な成果報告を行う他、セミナー・シンポジウム開催を行った。特に他の学術変革領域をパートナーとした研究会・シンポジウムなどの共催企画を数多く提案・開催し、運営活動を通じたネットワーキングと「場の形成」を意欲的に進めた。代表的な取り組みを下記に示す。

- ・ 2021/11/2 第7回 ABC-InFO：学変B「重水素学」と共催
- ・ 2022/1/13 24回ケムステVシンポ「次世代有機触媒」(共催)：浅野・上田 登壇
- ・ 2022/1/16 領域横断研究会：学変B「遅延制御」と共催
- ・ 2022/7/7-8 領域横断研究会：学変B「低エントロピー」と共催
- ・ 2022/10/17-18 領域横断研究会：学変B「多元応答ゲノム」と共催
- ・ 2022/12/27 35回ケムステVシンポ「有機合成が拓く最先端糖化学」(共催)：真鍋 登壇

- ・ 2023/3/3 第15回 ABC-InFO：学変 B「高分子進化学」と共催
- ・ 2023/3/26 日本薬学会年会 一般シンポジウム：学変 B「生理因数分解」と共催
- ・ 2023/7/5-7 蛋白質科学会ワークショップ：学変 B「neo-PTMs」と共催、生長・堀 登壇
- ・ 2023/11/1 日本生化学会 企画シンポジウム（共催）：堀・真鍋 登壇

(3) 広報・アウトリーチ

広報力を強化すべく、領域ホームページの設営 (<https://glycan-chemical-knockin.com/>)・SNS (X(Twitter)) の運用を開始し、領域としての成果・活動配信に努めた。具体的には領域としてのイベント・活動、論文発表や原稿掲載などのニュース、領域メンバーの昇任・受賞を掲載した。また、領域ロゴを作成し、領域活動の周知・宣伝に用いた。さらに、化学ポータルサイト Chem-Station とのコラボレーション企画 (<https://www.chem-station.com/author/glychemknockin>) を通じ、領域の趣旨・目標・取り組みについて、市井への情報発信を積極的に行った。また、学会誌・科学雑誌に学術成果をまとめた原稿や、本領域に関連する研究内容をまとめた記事を寄稿した。代表的な取り組みを下記に示す。

<寄稿記事・総説・解説>

- ・ *Trends in Glycosci. Glycotechnol.* **2022**, *34*, E35 『LYTAC: Membrane/Extracellular Protein Degradation』 (真鍋)
- ・ *ファルマシア* **2022**, *58*, 603 『液-液相分離を利用したタンパク質の細胞内送達』 (真鍋)
- ・ *医学のあゆみ* **2022**, *282*, 23261 『有機触媒探索からの計画的セレンディピティ』 寄稿 (生長・浅野・上田)
- ・ *医学のあゆみ* **2022**, *283*, 1173 『新たな機能性分子を合成する手法“クリックケミストリー”-2022年ノーベル化学賞によせて』 (生長)
- ・ *Chem. Rec.* **2023**, *23*, e202200200 『Organocatalytic Access to Tetrasubstituted Chiral Carbons Integrating Functional Groups』 (浅野)
- ・ *有機合成化学協会誌* **2023**, *81*, 96 『糖鎖の高次機能に迫るケミカルバイオロジー研究』 (真鍋)
- ・ *有機合成化学協会誌* **2023**, *81*, 366 『計画的偶発性マインドがもたらした研究キャリア』 (生長)
- ・ 書籍 *Modern Natural Product Synthesis - Overcoming Difficulties* 『Sequential Site-Selective Functionalization: A Strategy for Total Synthesis of Natural Glycosides』 (上田)
- ・ *Trends in Glycosci. Glycotechnol.* **2024**, *6*, J56 『Site-Selective Silylation of Carbohydrates by Molecular Catalysts』 (上田)
- ・ *Trends in Glycosci. Glycotechnol.* **2023**, *35*, E29 『Chemical Glycan Editing Opens the Door to Understanding the Precise Structure-Function Relationships of Proteoglycans』 (真鍋)
- ・ *Biosens. Bioelec.* **2024**, *247*, 115862 『Recent advancements of fluorescent biosensors using semisynthetic probes』 (堀)

<アウトリーチ>

- ・ リバネス「研究応援」 2022年3月号『反応化学で生命現象の解明・制御に挑む』インタビュー掲載 (生長)
- ・ 坂田薫の『SCIENCE NEWS』(YouTube番組) 出演、2022年11月18日 (生長)
- ・ 産総研マガジン『“2022年ノーベル化学賞「クリックケミストリー”とは？科学の目でみる、社会が注目する本当の理由』取材協力 (生長)
- ・ ペリかん社「なるには BOOKS 158 化学技術者・研究者になるには」『学術研究者として化学の可能性を広げる』インタビュー掲載 (浅野)

(4) その他

<班員の昇任・独立>

- ・ 2022.4 A03 代表 生長幸之助 東京大学大学院薬学系研究科・講師
→ 産業技術総合研究所・触媒化学融合研究センター・主任研究員
→ 同・研究チーム長 (PI) (2023.4)
- ・ 2022.4 A02 代表 堀雄一郎 大阪大学大学院工学研究科・准教授
→ 九州大学大学院理学研究院・教授 (PI)
- ・ 2022.5 A02 班員 浅野圭佑 京都大学大学院工学研究科・助教
→ 北海道大学 触媒科学研究所・准教授
- ・ 2023.4 A03 班員 上田善弘 京都大学化学研究所・助教
→ 産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター・主任研究員

<班員の受賞>

- ・ 大阪大学賞 (真鍋)
 - ・ 日本化学会第 103 春季年会 第 37 回若い世代の特別講演『合成を基盤として糖鎖の高次機能に迫るケミカルバイオロジー研究』(真鍋)
 - ・ 日本化学連合 化学コミュニケーション賞 2023 『化学系バーチャルシンポジウムの開拓と実践』(生長)
 - ・ 日本化学会 生体機能関連化学部会 バイオ関連化学シンポジウム講演賞『合成生物学的アプローチによる細胞表層糖鎖ネットワークの解析』(真鍋)
 - ・ 第 15 回 アジア最先端有機化学国際会議 2022 Asian Core Program Lectureship Award (上田)
- 2021 年度 有機合成化学奨励賞『精密合成を基盤とした糖鎖機能解析・制御分子の創製とその利用』(真鍋)

5-2. A01 班

課題番号: 21H05074

課題名: 糖鎖・糖鎖修飾膜タンパク質を「つくる」ことによるタンパク質膜動態の可視化

研究代表者: 真鍋 良幸 (大阪大学 大学院理学研究科 助教)

5-2-1. 研究開始当初の背景

細胞表面は大量の糖鎖に被覆されている。そのため、糖鎖は膜上でのイベントに深く関連する。糖鎖修飾はもっとも一般的な翻訳後修飾で、ほとんどすべての膜タンパク質には糖鎖が付加する。膜タンパク質上の糖鎖は、糖鎖-糖鎖相互作用や糖鎖-レクチン相互作用、糖鎖-タンパク質相互作用、ラフト形成など、さまざまな相互作用を介して、タンパク質の動態・機能を調節する。加えて、近年、細胞間コミュニケーションツールとして、細胞外小胞 (EV) の重要性が報告されているが、細胞膜成分で構成される EV もやはり糖鎖に覆われており、糖鎖は EV の分泌や取り込みにも密接に関連する。一方、糖鎖は構造多様性、不均一性が高く、糖鎖構造に基づいた糖鎖機能の解析は進んでいない。この点にアクセスするためには、構造の明らかに純粹構造の糖鎖を供給し、さらにはこの糖鎖で修飾されたタンパク質を作ることが第一歩となる。しかし、糖鎖の化学合成は未だに発展途上で、複雑構造の糖鎖をライブラリ的に得る技術は確立されていない。さらに、この合成糖鎖を膜タンパク質上に導入する手法もほとんど検討されていない。

5-2-2. 研究の目的

本研究では最も一般的な翻訳後修飾糖鎖の一つである *N*-結合型糖鎖 (*N*-グリカン) を対象とする。*N*-グリカンはタンパク質のアスパラギンに結合する糖鎖で、多様な構造を持ち、その構造に基づき、タンパク質の機能を調節する。まず、*N*-グリカンの網羅的な合成を可能とする汎用性の高い糖鎖合成法を検討する。続いて、本手法を用いて *N*-グリカンをライブラリ的に合成することを目指す。また、合成した *N*-グリカンを膜タンパク質に導入し、糖鎖修飾が膜タンパク質の動態に及ぼす影響を精査するための手法を開発する。これにより、糖鎖が膜タンパク質動態、さらには、EV を介した細胞間コミュニケーションにおける糖鎖の役割を紐解く。

5-2-3. 研究の方法

i) *N*-グリカンライブラリを「つくる」: これまでの糖鎖合成のノウハウの基盤にしつつもより効率的な合成法を開拓する。まず、複雑構造の糖鎖合成に利用可能化効率的なグリコシル化法を開発する。さらに、ここで開発するグリコシル化に加え、申請者がこれまでに開発してきた合成戦略を駆使し、世界的にも例をみない *N*-グリカンライブラリを構築する。加えて、酵素合成なども組み合わせることで、申請者の持つ合成糖鎖ライブラリを大幅に拡張する。

ii) 糖鎖修飾膜タンパク質を「つくる」: Halo タグを用いて生きた細胞上の膜タンパク質に糖鎖を導入する手法を開発する。Halo タグは、ハロゲン化アルキル (Halo タグリガンド) と速やかに反応し、共有結合を形成するタグタンパク質で、糖鎖と蛍光基を導入した Halo タグリガンドを用いることで、蛍光標識した糖鎖修飾モデル膜タンパク質を調製できる。加えて、生体適合反応を利用したインタクトの細胞上への糖鎖を導入する手法を確立する。これらの手法を用いて、生細胞上、EV 上の膜タンパク質に合成糖鎖をノックインする。これにより糖鎖による膜タンパク質動態制御を解析するための基盤をつくる。

5-2-4. 研究成果

i) N-グリカンライブラリを「つくる」

効率的な糖鎖合成を実現するために、まず、グリコシル化反応を検討した。温和な条件でのグリコシル化を実現するために、光によりルイス酸性を精密制御可能な錯体を利用した手法を開発した (*Chem. Eur. J.* **2022**, *28*, e202202284)。この際、グローブボックス内でグリコシル化反応を実施することで、極めて効率的に糖鎖の連結が可能であることを見出し、これをフッ化糖を用いたグリコシル化反応に適用した (*Org. Lett.* **2022**, *24*, 6-10)。フッ化糖を用いたグリコシル化においては、触媒化が困難であるとされてきたが、グローブボックス内での反応により、この常識を覆し、効果的な糖鎖合成が可能になることを見出した。

さらに、上記で見出したグリコシル化を駆使し、N-グリカンの合成に取り組んだ。シアル酸含有糖鎖の化学合成は、困難を極める。我々は、反応条件の検討にとどまらず、保護基戦略まで徹底的に検討することで、重水素標識糖鎖、さらには、世界初の 4 つのシアル酸を持つ 4 分枝糖鎖の化学合成を達成した (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 24686-24693)。加えて、ここで確立した手法と上記のグローブボックス内でのグリコシル化反応を組み合わせることで、より効率的な合成戦略を確立し、4 分枝シアリル糖鎖のライブラリ合成を達成した。一方、酵素合成も検討し、異なる長さのラクトサミン鎖を持つ N-グリカンを網羅的に合成することにも成功した。

また、より広範な糖鎖の機能について探索するために、超好熱古細菌 *Thermococcus kodakarensis* から N-グリカンを単離・構造決定し、その合成も検討した。本研究で発見した N-グリカンは、高度にグリコシル化された *myo*-イノシトールが、リン酸ジエステルを介して 2 糖と連結した極めてユニークな構造であった。*myo*-イノシトールは古細菌や真核生物に普遍的に存在する生体分子であるが、その構造が N-グリカンに含まれることを報告したのは、本研究が初で、この糖鎖の合成にも成功した (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202218655)。

他にも細胞接着に関わるスルホシアリルルイス X や免疫誘導性の糖鎖抗原など複数の糖鎖の合成を達成した。

ii) 糖鎖修飾膜タンパク質を「つくる」

HaloTag を用いた糖鎖提示システムを用いて、生細胞上の膜タンパク質に合成糖鎖を提示し、糖鎖が膜タンパク質の動態に及ぼす影響を精査できる系を構築した。結果として、本系を用い、糖鎖とレクチンの相互作用が膜タンパク質の側方拡散や EV へのローディングを制御することを明らかにした。加えて、アジド糖を用いた細胞表層の代謝標識と Click 反応を組み合わせることで、細胞表層の膜タンパク質に免疫原性のある糖鎖を導入することに成功した。本系において、光により開裂可能な保護基で暫定的に保護した糖鎖を利用することで、光照射により時空間選択的に糖鎖機能を制御することにも成功した (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303750)。加えて、近接標識法を利用してインタクトの細胞表層の膜タンパク質に自在に合成糖鎖を導入する手法も確立した。他にも、抗体に糖鎖を導入し、抗体の膜上での動態を制御し、その薬効を高めることができることも示した (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202304779)。このように、合成糖鎖を導入した膜タンパク質を「つくり」、糖鎖機能を理解・制御するためのプラットフォームを確立した。

5-3. A02 班

課題番号: 21H05075

課題名: 化学プローブで「みる」タンパク質膜動態の糖鎖制御

研究代表者: 堀 雄一郎 (九州大学 大学院理学研究院 教授)

課題番号: 21H05076

課題名: 糖鎖-タンパク質相互作用を「みる」ための光駆動リレー触媒反応

研究代表者: 浅野 圭佑 (北海道大学 触媒科学研究所 准教授)

5-3-1. 研究開始当初の背景

多くの膜タンパク質は、細胞内外からのシグナルに応答し、局在を大きく変化させる。ある時は細胞膜に存在していても、細胞外からの生体シグナルに応答し、細胞内に内在化しオルガネラ膜に移行することや分解されることがある。更には、膜タンパク質はエクソソームと呼ばれる小胞の膜に組み込まれ細胞外に分泌され、他の遠く離れた細胞に取り込まれることもある。このダイナミックな膜動態が膜タンパク質の機能の制御に重要であり、その異常は、癌や生活習慣病などの様々な疾患発症の原因となるため、膜動態の制御機構を明らかにすることは、生命科学・医学の重要な課題と言える。

近年、その制御機構に糖鎖が関わるということが明らかにされつつある。一方、糖鎖は、その複雑性と多様性により解析が困難であり、糖鎖によるタンパク質の膜動態の制御機構には未解明な部分が多く残されている。この問題を克服するには、タンパク質の膜動態の可視化と、糖鎖と相互作用し膜動態を制御するタンパク質を同定する新たな手法の開発が求められていた。

5-3-2. 研究の目的

本研究では、独自のタンパク質ラベル化法を開発することで、膜タンパク質の内在化や分解を高精度に可視化する技術を開発するとともに、膜タンパク質の細胞内多重局在の制御において糖鎖が果たす役割を明らかにする。また、その膜タンパク質が細胞膜表層で関与する相互作用を検出するために、タンパク質ラベル化法と酵素反応を利用した近位依存性標識システムを構築した。さらに、糖鎖-タンパク質間相互作用を明らかにする次世代の基盤技術として、Tyr をブロモ化する光触媒反応を開発する。

5-3-3. 研究の方法

堀グループでは、PYP タグと合成蛍光プローブを用いたタンパク質ラベル化法を開発してきた。本研究では、pH 応答性色素や膜非透過性・透過性蛍光色素、およびビオチンを組み込んだ PYP タグラベル化プローブを開発し、PYP タグを融合した各種膜タンパク質を生細胞でラベル化した。このラベル化技術により、膜タンパク質の動態解析や、糖鎖制御機構解析、タンパク質間相互作用の検出を行った（研究成果 1～3）。また浅野グループは、生体適合性が高いオレフィンを活性部位に持つシクロオクテン触媒を独自に開発してきた。本研究では同触媒を利用した Tyr ブロモ化反応を開発し、分子サイズが小さく生体適合性が高い化学反応ツールによる光触媒反応と極小タンパク質タグ PYP による選択的ラベル化技術を複合した高精度標識技術の開発を目指した。また、可視光を利用できる反応系を開発することで生体侵襲性を低減することにも注目した（研究成果 4～6）。

5-3-4. 研究成果

1. タンパク質膜動態を可視化するマルチスイッチ蛍光プローブの開発

堀グループは、膜タンパク質のエンドサイトーシスと分解を蛍光波長と強度の変化で捉えるマルチスイッチ

蛍光プローブを開発した。プローブ開発にあたり、膜タンパク質はエンドサイトーシスにより内在化すると、エンドソーム内の pH が低下する点に着目した。プローブは、蛍光性 PYP タグリガンドと pH 応答性色素を連結させることで、リガンドから色素への蛍光共鳴エネルギー移動効率が pH に応答して低下し、蛍光波長が変化するように設計した。さらに、タンパク質が分解されると蛍光強度が低下するように蛍光性 PYP タグリガンドを設計した。これらの設計戦略のもと、プローブを有機合成し、ラベル化反応を行いプローブの蛍光特性を調べたところ、プローブは、PYP タグをラベル化し蛍光強度が増大し、pH が変化すると蛍光波長が変化し、タンパク質が分解するとリガンドの蛍光強度が低下することが分かった。さらに、生細胞に発現させた上皮成長因子受容体をラベル化し、その内在化を蛍光色の変化として捉えることに成功した。

2. 糖鎖が制御するタンパク質膜動態の可視化

グルコース輸送体 GLUT4 は、細胞内貯蔵小胞や、細胞膜、ゴルジ体など様々な場所に局在することが知られている。堀グループは、以前の研究で、GLUT4 に結合している糖鎖は、インスリン添加時に GLUT4 を細胞膜に保持する役割を果たすことを明らかにしていたが、細胞内における糖鎖の機能には不明な点が残されていた。糖鎖の細胞内機能を明らかにするために、細胞表層選択的に PYP タグをラベル化するプローブと細胞内選択的な PYP タグラベル化プローブを開発し、それらのプローブを用いて、PYP タグを融合した GLUT4 のマルチカラーイメージングを行うことで、多重局在解析を行った。その結果、細胞膜に移行する動的挙動を示す GLUT4 と、細胞内から動くことのない静的挙動を示す GLUT4 を識別して可視化することに成功した。さらに、糖鎖が欠損すると、GLUT4 の一部はリソソームに移行することが示され、糖鎖が ER-lysosome 関連分解 ERLAD に関与することが示唆された。このように、糖鎖が GLUT4 の品質管理を制御する知見が得られた。

3. 近位依存性標識による生体分子間相互作用の検出

GLUT4 の動態制御には糖鎖が関わるが、その詳細な分子機構は不明なままである。そこで、堀グループは、本研究では、GLUT4 の糖鎖がタンパク質と相互作用し、GLUT4 の動態を制御していると考え、GLUT4 相互作用タンパク質を検出する技術開発を行った。PYP タグを融合した GLUT4 をビオチン化プローブでラベル化し、ストレプトアビジン結合 Horseradish peroxidase と結合させ、Biotinyltyramide で近位依存性標識するシステムを構築した。その結果、GLUT4 相互作用タンパク質を検出することに成功した。

4. 二官能性シクロオクテン触媒の開発と光触媒的 Tyr ブロモ化修飾への利用

モデル反応としてブロモラクトン化反応を利用して、実験と計算による反応機構解析を実施した。これにより触媒作用の詳細を理解することで、シクロオクテン触媒の活性が置換基により制御可能なことを見だし、既に報告したシクロオクテン触媒と比較してもさらに劇的に高活性になった二官能性シクロオクテン触媒を開発した。また、この二官能性触媒はトランスシクロオクテンより合成および取り扱いが容易なシスシクロオクテンにも高い活性を与え、実用的な触媒の創出につながった。さらに、この二官能性シクロオクテン触媒の活性が置換基を保護することで抑制できることを見だし、これを利用して、光分解性保護基を付けることで光照射により系内で活性化できる光駆動触媒を開発した。本触媒は、生体分子標識に必要な反応の時空間制御に利用できる。紫外光で駆動できる触媒の開発から着手し、光分解性保護基を変えることで活性化に必要な波長を調節できる特徴を利用し、最終的には可視光で駆動できる触媒を開発した。また、これらの触媒を利用した芳香族ブロモ化反応を開発し、Tyr 側鎖の光触媒的修飾に利用した。本触媒系は Tyr 残基を含むペプチドにも適用できた。

5. 置換シクロオクテン誘導体の効率的ライブラリ合成法の開発

シクロオクテン触媒のさらなる高機能化を狙い、シクロオクテン誘導体のライブラリを拡張できる合成法を開発した。置換シクロオクテンの合成法は古典的手法から更新されていなかったが、4で述べたように置換基が触媒機能に大きく影響するため、様々な置換基をオレフィン部位に効率よく導入し、既存法では合成できなかったシクロオクテン誘導体を得られる手法として、クロスカップリング反応を利用した合成法を開発した。本手法で合成したシクロオクテン誘導体を利用して新たな高活性触媒も開発した。

6. 生体適合型ブロモ化剤の開発

触媒開発だけではなく、生理的条件（水系溶媒、反応温度 37 °C）にて自発的な分解やバックグラウンド反応を起こさないが、二官能性シクロオクテン触媒の存在下では速やかに活性化できる生体適合型ブロモ化剤も開発した。また、この反応剤の励起状態の反応性についても研究し、光触媒として色素分子を利用することで可視光により活性化され、Tyr のブロモ化に利用できることを見いだした。現在は、4~5 で開発したシクロオクテン触媒系と 6 で開発した色素触媒系を利用して、これらを複合した生体分子標識法の開発をさらに進めている。

5-4. A03 班

課題番号: 21H05077

課題名: 膜動態を「あやつる」ための膜タンパク質の化学的糖鎖修飾法

研究代表者: 生長 幸之助 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 研究チーム長)

研究分担者: 金井求 (東京大学大学院薬学系研究科 教授)、川島茂裕 (同 准教授)

課題番号: 21H05078

課題名: 膜動態を「あやつる」糖鎖ライブラリ多様化に向けた特定の糖選択的変換

研究代表者: 上田 善弘 (産業技術総合研究所 触媒化学融合研究センター 主任研究員)

5-4-1. 研究開始当初の背景

糖鎖は核酸・タンパク質に続く第3の生命鎖として認識されているが、糖鎖機能の解析は生合成酵素のノックアウトを中心に進められてきたため、その分子基盤解明は立ち遅れている。糖鎖はそれ自体単独で効果を発揮しているわけではなく、タンパク質や脂質に付加することによって初めて機能する。特に、膜タンパク質に目を向けると、修飾糖鎖がエンドサイトーシスの制御やエクソソームの細胞間移行の制御に深く関わるなどの報告例が相次いでおり、「糖鎖修飾」はタンパク質の膜動態において中心的な役割を果たしている。しかし糖鎖(構造・修飾様式・周辺分子との相互作用)と膜動態(細胞内動態・細胞外分泌・細胞間移行およびレシピエント細胞における膜動態)の関係性については今なお不明な点が多い。糖鎖構造/修飾様式を変更することでタンパク質の膜動態を変化できるか否かについては、世界的にも知見が存在しなかった。

5-4-2. 研究の目的

糖鎖構造/修飾様式とタンパク質膜動態の関係性理解およびその人為的制御、さらには生命科学研究への応用を見据えた生体適合反応化学の学術基盤を構築することを目的とした。糖鎖と膜タンパク質を個別調製し、生体適合型の化学反応を用いて、両者を結合させる手法を開発できれば、様々な構造の糖鎖を用意し、様々な修飾様式で簡便な糖タンパク質供給法となる。さらに、生体膜上で実施可能なタンパク質の修飾反応を確立することで、タンパク質膜動態や糖鎖機能の人為的制御(「あやつる」)に有効な化学ツールとなると考えた。

5-4-3. 研究の方法

これまでの糖鎖生命科学研究において、主流であった酵素を活用する手法ではなく、独自の反応化学を活用した化学修飾を基盤とした方法論を開発することとした。これにより、生合成系・酵素系では実現し得ない修飾様式にもアプローチできる方法論ができると考えた。班構成員の生長はタンパク質修飾反応を、上田は糖修飾反応をそれぞれ開発することで、それぞれ得意とする変換対象から機能制御を可能にすることを目指した。

5-4-4. 研究成果

修飾対象を i) タンパク質 及び ii) 糖 に分けて研究成果を記載する。

i) タンパク質の修飾

生長はこれまで、独自のラジカル種的设计によるアミノ酸残基選択的修飾反応の開発に取り組み、トリプトファン選択的修飾反応の開発を行ってきた。タンパク質に応じて好みの修飾を行うために、他のアミノ酸残基

選択的反応の開発を行うことで、化学変換ツールの拡充を目指した。イミノキシルラジカルの反応性を詳細に検討することで、チロシン選択的な修飾反応が進行することを見出した (*J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 19844-19855)。イミノキシルラジカル近傍の置換基の高さによって、付加体の安定性を調整することができ、環境に応じて逆反応が進行する系へと展開することもできた。本反応はタンパク質機能をオンデマンドで制御可能なツールへと展開が可能である。

また、アミノ基を足がかりとした修飾反応の開発にも取り組んだ。光触媒、アミン触媒及びゲルマニウム触媒の三成分共存下、光照射するとアミノ基の α 位 C-H 結合が選択的に C-C 結合へと変換可能な方法論を開発した (*Org. Lett.* **2022**, *24*, 3325-3330)。さらに、ペプチドチオカルボン酸を修飾反応剤として活用することで、カルボン酸存在下でアミノ基選択的なアミド形成反応が進行することも見出した (*Commun. Chem.* **2023**, *6*, 231)。本反応は、アミノ基選択的な修飾反応としてだけでなく、保護基の利用を最小限に抑えることのできるペプチド形成反応へと展開が可能であった。

開発したアミノ酸選択的修飾反応を活用した、膜タンパク質の糖鎖修飾に先立ち、糖タンパク質の代表例と言える抗体の修飾反応を行った。これまでトリプトファン修飾反応では、活性種であるオキソアンモニウムイオンの前駆体として、N-オキシルラジカルを利用していたが、代わりにヒドロキシルアミンを前駆体として活用することで、抗体のような酸感受性タンパク質への修飾反応がうまく進行することがわかった (*Bioconjugate Chem.* **2023**, *34*, 781-788)。これによって、抗体-金クラスターコンジュゲートの創成が可能となり、cryo-EM によって想定するコンジュゲート金クラスター粒子が確認できた。

その後、細胞膜上タンパク質のトリプトファン残基選択的な糖鎖修飾に取り組んだ。標的タンパク質の抗体に酸化酵素 (HRP) をコンジュゲートさせた抗体-触媒複合体を用いることで、オキソアンモニウムイオンの前駆体を触媒近傍でのみ発生させることが可能であり、フローサイトメトリーによって細胞膜上での抗原依存的化学修飾が進行することが確認できた。今後は糖鎖修飾の有無によって、膜動態解析及び制御を検討していく。

ii) 糖の修飾

上田は分子認識型触媒によるグルコース誘導体の 4 位水酸基選択的アシル化法を開発していた。この触媒はグルコース誘導体を水素結合によって認識することで、加速的なアシル化を進行させることがわかっていた。そこで、触媒あるいはその誘導体存在下でアシル化を行うと、他の糖共存下でグルコース選択的なアシル化が進行するのではないかと考え、検討を行った。その結果、他の糖の 10 倍以上の速度でグルコース誘導体へのアシル化が進行することがわかった。触媒活性種のモデル化合物と糖誘導体との会合定数を実験的に算出したところ、会合定数は糖によって大きな差はないことがわかり、会合状態が反応遷移状態に至るか否かが、選択性発現に重要であることが明らかとなった。

分子認識型触媒はアシル化以外の官能基変換にも適用可能ではないか、という考えから、シリル化反応の検討を行うこととした。その結果、アシル化触媒の鏡像異性体を触媒として用いた際に、グルコース誘導体の 3 位水酸基選択的にシリル化が進行することを見出した。シリル化反応は立体障害の影響を強く受けることが知られており、第一級水酸基存在下で、糖の第二級水酸基水酸基に優先してシリル化が進行した例は初めてである (*Eur. J. Org. Chem.* **2022**, e202200949)。さらに分子認識型触媒の反応性を精査することで 1,5-アミノアルコールの基質選択的シリル化法を見出した (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, *61*, e202114118)。炭素鎖長の異なる 1,3-アミノアルコール誘導体や 5 位置換ペンタノールとの速度比は 10 倍以上と、混合物を用いてもシリル化による速度論的分割ができるような反応を開発することができた。アミノ基をうまく認識し、選択的なシリル化を行うことができれば、アミノ糖の選択的シリル化反応へと展開が期待できる。

開発した官能基変換を基盤として、糖に置換基を導入してその機能をケーシングした後、置換基を光除去することで、糖機能の OFF/ON スイッチが可能と考えた。まず概念実証として、単糖を用いて検討を行うことと

した。Complement-Dependent Cytotoxicity (CDC) 活性を示すことが知られているラムノースの位置選択的修飾を検討したところ、光除去可能なアルコキシカルボニル基を位置選択的に導入することが可能とわかった。A01 班真鍋グループでこの誘導体を代謝的ラベル化及びクリック反応によって細胞表層に導入し、糖機能のON/OFFを検討した。ケージド糖を導入するのみではCDC活性を示さない一方で、光照射の後は、CDC活性を示すことがわかり、細胞表層での糖機能制御が可能であることを示すことができた (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303750)。

分子認識型触媒によるケージング法の他にも有効なケージング法がないかと検討を行った。ロタキサンは代表的なインターロック分子の一つであり、軸成分が輪成分を貫通し、両成分が解離しない化合物のことを言う。ドラッグデリバリーへの展開も試みられるなど、機能性分子素子としての応用研究が活発に行われているが、容易に誘導化可能なロタキサンを簡便合成する手法は限られていた。軸成分末端にフェノールを持つアンモニウム分子を軸成分として設計することで、臭素化によるロタキサンの簡便合成が可能であることがわかった。得られたロタキサンはカップリング反応によってロタキサン構造を保ったまま誘導化が可能であることに加えて、塩基性条件でキノンメチドの発生を伴った分解反応が進行することがわかった。本手法は、アミノ基を有する生物活性物質の新たな放出制御機構としての応用が期待できる (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303078)。