

令和 3 年 4 月 19 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K15567

研究課題名(和文) 多分子連結を可能にする新規クリック反応素子の開発とその応用

研究課題名(英文) Development of new click reaction device for multi-molecular connection

研究代表者

河崎 悠也 (Kawasaki, Yuuya)

九州大学・先端物質化学研究所・学術研究員

研究者番号：00781999

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、無触媒Huisgen反応性を有する含窒素9員環アルキンDACNを基本骨格とする多分子連結型DACNの開発とその応用に関する研究を実施した。その結果、カルボン酸と縮合可能なDACN-NH、アミンと迅速にアミド結合を形成するDACN-maleimide、チオール類とC-S結合を形成するDACN-NHS esterなど多様な多分子連結型DACNの開発に成功して、これらを用いた生体機能分子の複合化にも成功した。さらには、蛍光標識型クリック反応についても検討して、DACNとアジドクマリンとの反応によって得られるトリアゾールが高い蛍光量子収量を示す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

ペプチド、糖、核酸、抗体、等の生体分子は、生命現象を司る分子として重要であるのみならず、多様な機能性物質の源として有用である。しかしながら、複雑な構造を有する生体分子を自在に組み合わせ、複合化させることは、未だ困難な課題である。

これに対して、本研究で開発した多分子連結型DACNは、生体分子に導入することができ、さらにクリック反応を介して複合化が可能であることから、生体分子の機能解明や新たな機能性を付与した生体機能分子の創出が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We carried out the development and application of 4,8-diazacyclononyne having multi-molecule connector (DACN-MMC). As a result, we succeeded in the synthesis of DAC-MMC e. g. DACN-NH, DACN-NHS ester, and DACN-maleimide which can be connected with carboxylic acid, amine, and thiol, respectively. Furthermore these DACN-MMCs can be used for the conjugation of biomolecules.

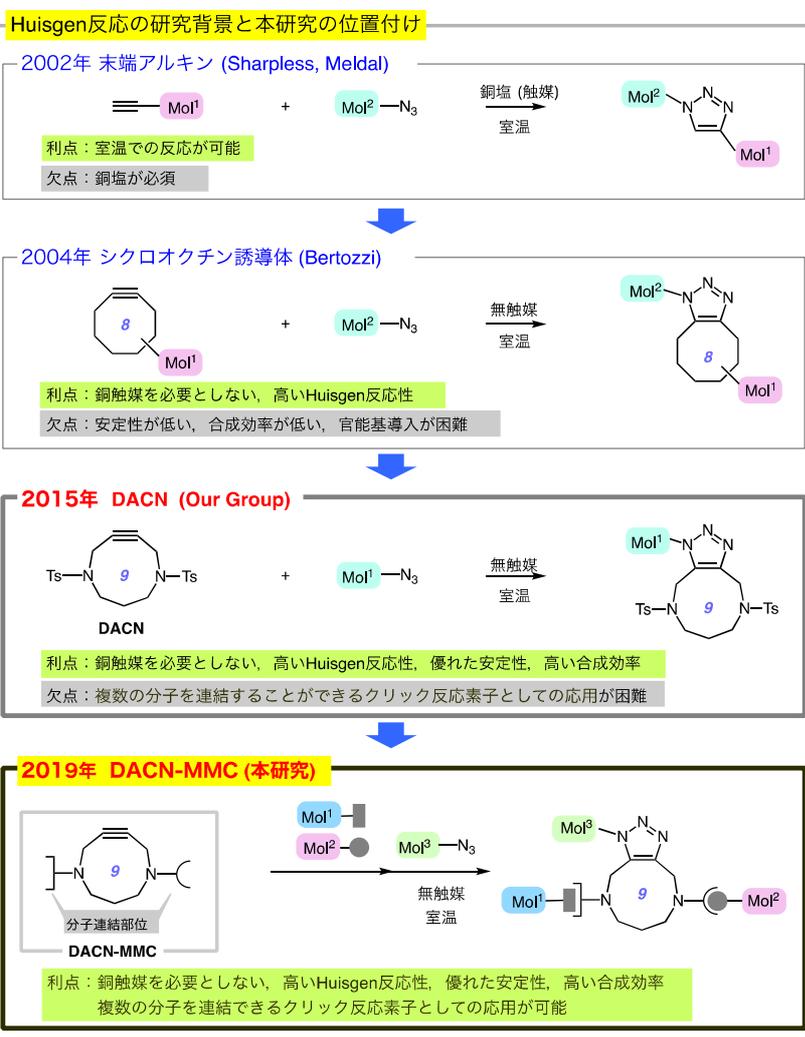
研究分野：有機化学

キーワード：有機合成化学 クリック反応 DACN

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

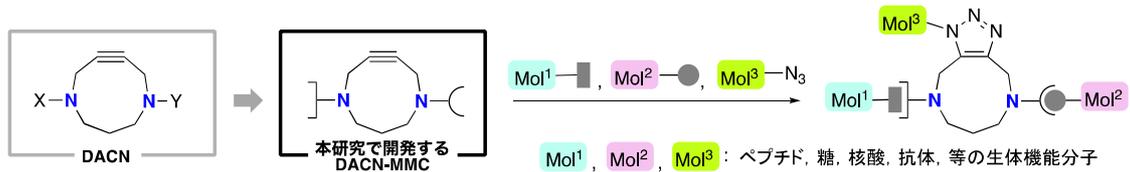
近代の生物有機化学や機能性材料の研究において、クリック反応と総称される選択的かつ効率的な分子連結法が重要な役割を果たしている。本研究では、生理条件下での生体機能分子の化学修飾を可能にする新しいクリック反応素子の開発とその応用を目指した。クリック反応とは、「温和な条件下、簡便な操作で二つの分子を選択的に連結できる反応」の総称である。特に、アルキンとアジドとの付加環化反応(Huisgen 反応)は、2002年に Sharpless 教授ら、Meldal 教授らによって触媒量の銅塩を共存させると末端アルキンの反応が室温下でも迅速に進行することが明らかにされて以降、クリック反応の代表例として幅広い応用がなされてきた。しかしながら、末端アルキンの反応に必須な銅塩が高い毒性を有するために、生体機能分子の複合化研究への応用は困難であった。これらの問題の解法の一つとして、2004年に Bertozzi 教授らは、銅触媒がなくとも室温下で Huisgen 反応が迅速に進行するシクロオクチン誘導体の利用を報告した。これによって、生体機能分子の複合化研究等への Huisgen 反応の応用が可能になったが、シクロオクチン誘導体は室温下でも自発的な多量化が速やかに進行してしまうために、その合成や精製段階に特別の注意を払う必要がある。また、高反応性ゆえに時としてチオール類がアルキン部位に付加する。すなわち、クリック反応に必須な反応の特異性に難があった。さらに、従来のシクロオクチン誘導体は機能多様性に乏しく複数の分子を自在に導入することは困難であった。これに対して本申請者らは、環内プロパルギル位に窒素官能基を有する9員環アルキン DACN の開発に成功している(2015年)DACNは、高い Huisgen 反応性と、優れた熱的、化学的安定性を併せ持ち、またその合成も容易である。このような背景のもと、本研究では DACN の窒素上にアルキン部位での Huisgen 反応と干渉し合わない分子連結部位を導入することで生体機能分子の複合化に有用な多分子連結型 DACN (DACN-derived multi-molecule connector: DACN-MMC)を開発するとともに、その応用について検討した。



DACN-MMC)を開発するとともに、その応用について検討した。

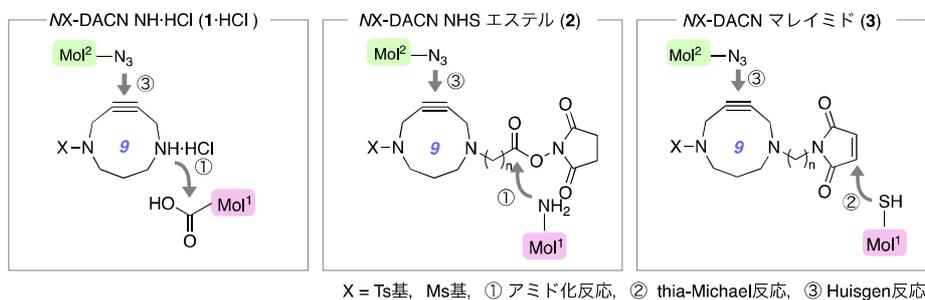
2. 研究の目的

本研究は、生理条件下での生体機能分子の化学修飾を可能にする新しいクリック反応素子の開発とその応用を目的とするものである。本研究で開発する DACN-MMC には、従来のクリック反応素子に比べてはるかに高い基質特異性と反応性を併せ持つことが期待される。それ故に、DACN-MMC を活用することで、生体機能分子の機能解明やバイオ医薬合成の開発が促進されると期待できる。



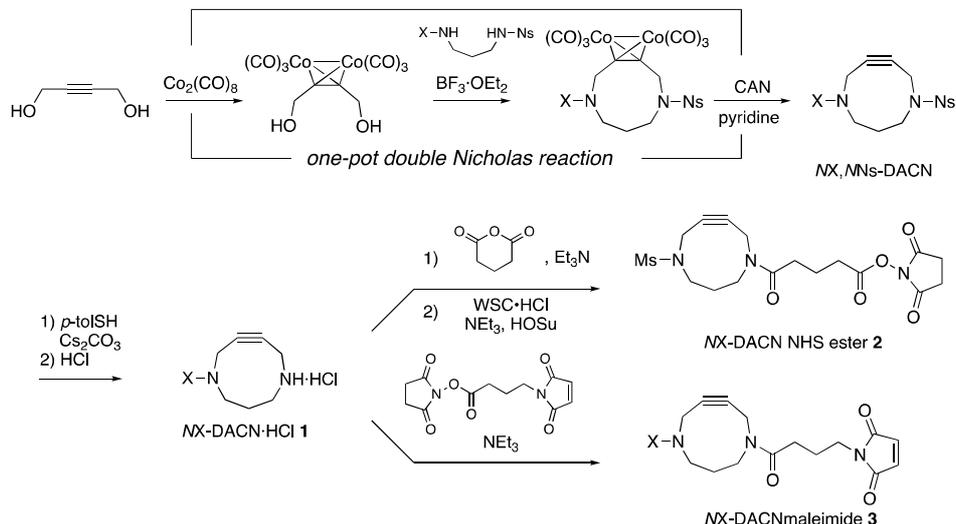
3. 研究の方法

本研究では、カルボン酸と縮合可能な DACN NH·HCl (1), アミン類と迅速にアミド結合を形成する DACN NHS エステル (2), チオール類と thia-Michael 反応によって迅速に C-S 結合を形成する DACN マレイミド (3) を設計, 合成するとともに, それらを用いた生体分子の複合化について検討した。



4. 研究成果

DACN-MMC の開発 本申請者らは二重 Nicholas 反応を用いる DACN のワンポット合成法を開発している (*Synlett* 2017)。本研究では、ワンポット法によって NX, MNs-DACN (X = Ms, Ts) を合成して, その Ns 基の除去, 塩酸塩化によって DACN NH·HCl (1) を合成した後, 分子連結部位の導入することで DACN NHS エステル (2), DACN マレイミド (3) を得た。なお, これら DACN-MMC の幾つかは市販化された。

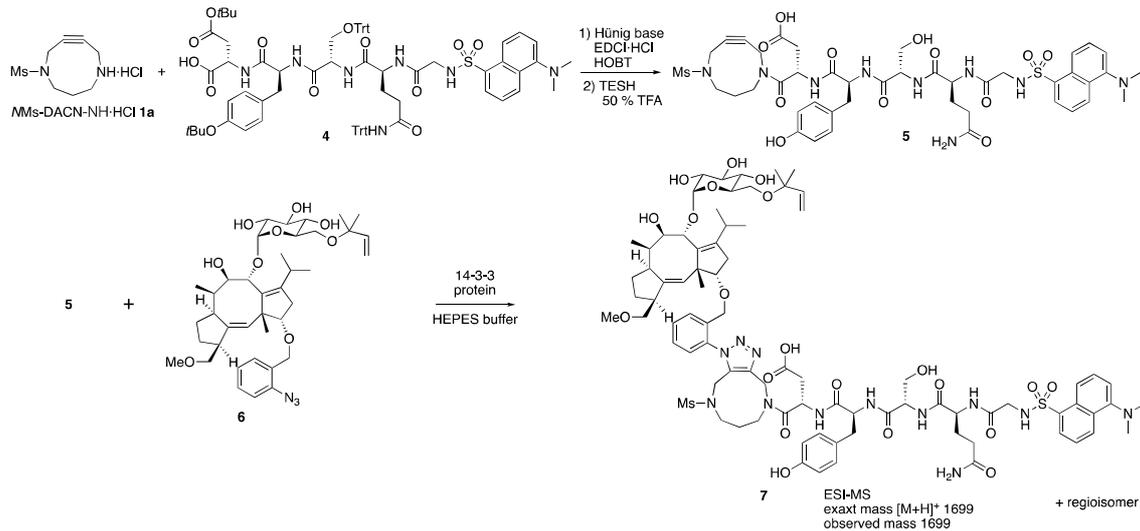


関東化学: https://products.kanto.co.jp/web/index.cgi?c=t_product_table&pk=142

九州大学プレスリリース: <https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/482>

DACN-MMC を用いた生体機能分子の複合化

細胞内タンパク質間相互作用の制御因子として知られる 14-3-3 タンパク質と相互作用するペプチドとフシコクシン誘導体の複合化に成功した (信州大学 大神田教授との共同研究) . MMs-DACN·HCl (1a, X = Ms) をペプチド 4 に導入して 5 とした後に, アジドを導入したフシコクシン誘導体 6 と反応させた . 5 と 6 との反応では, テンプレート効果が観測された . すなわち, 14-3-3 タンパク質共存下では反応が大幅に加速されまた位置選択的に進行した . さらに, 生細胞を用いた実験では 7 は細胞膜透過性が低く優位な活性を示さないのに対して, 5 と 6 を別々に作用させると, それぞれが細胞膜を透過した後に細胞内で反応が進行して 7 が生じ, 高い活性が発現することが明らかになった . このように DACN-MMC を用いることで生細胞内での生体機能分子の複合化が可能であることを実証した . これらの研究成果の一部を国際学術誌 (Chemistry an Asian Journal, 2020) に報告した .



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Masuda, R.; Kawasaki, Y.; Igawa, K.; Manabe, Y.; Fujii, H.; Kato, N.; Tomooka, K.; Ohkanda, J.	4. 巻 17
2. 論文標題 Copper-Free Huisgen Cycloaddition for the 14-3-3-Templated Synthesis of Fusicoccin Peptide Conjugates	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Asian. J.	6. 最初と最後の頁 742-747
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/asia.202000042	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 Kawasaki, Y.; Yamanaka, Y.; Seto, Y.; Igawa, K.; Tomooka, K.	4. 巻 49
2. 論文標題 Synthesis of NMs-DACN: Small and Hydrophilic Click Reaction Device	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 495-497
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1246/cl.190026	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河崎 悠也, 林原 智也, 鬼塚 和光, 井川 和宣, 永次 史, 友岡 克彦
2. 発表標題 DACNを用いた蛍光標識型クリック反応の開発
3. 学会等名 日本化学会 第101回春季年会（2021）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河崎悠也, 山中裕貴, 瀬戸祐樹, 河原慎太郎, 井川和宣, 友岡克彦
2. 発表標題 生体分子の化学修飾を指向した新規クリック反応素子DACN-MMCの開発
3. 学会等名 第36回有機合成化学セミナー
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 河崎悠也, 瀬戸祐樹, 河原慎太郎, 井川和宣, 友岡克彦
2. 発表標題 多分子連結素子DACN-MMC の開発とペプチド化学への応用
3. 学会等名 第5回 統合物質創製化学研究機構シンポジウム
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 河崎悠也, 谷口優太郎, 瀬戸祐樹, 井川和宣, 友岡克彦
2. 発表標題 クリック反応素子DACNの実用的合成法とその応用
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 増田遼馬, 河崎悠也, 井川和宣, 友岡克彦, 藤井博, 加藤修雄, 大神田淳子
2. 発表標題 細胞内中分子合成を指向したHuisgen環状付加反応と14-3-3誘型効果
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第14回年会
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------