

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20591

研究課題名（和文）遷移金属化学のケミカルバイオロジーへの展開

研究課題名（英文）Transition metal chemistry applied to chemical biology

研究代表者

袖岡 幹子 (Sodeoka, Mikiko)

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

研究者番号：60192142

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000 円

研究成果の概要（和文）：生物活性化合物と結合タンパク質の間に共有結合を形成するアフィニティーラベリングは、ケミカルバイオロジー研究において標的タンパク質や化合物の結合部位の同定に有用である。しかしながら多量の非修飾ペプチドの中から修飾を受けたペプチドを同定するためには、効率的に修飾ペプチドを精製することが重要である。そのため本研究では、化合物の生物活性を損なうことなく導入可能なコンパクトな官能基をタグとし、これを遷移金属錯体で捕捉する手法を開発し、化合物により修飾を受けたペプチドを効率的に精製して同定することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物活性化合物の標的タンパク質の同定は、新しい生命現象の発見や解明につながることや、より活性の高い化合物の開発を通して創薬につながるが期待される。しかしながら既存の手法だけでは同定が困難なケースも多く、新しい手法の開発が望まれている。本研究では、全く異なる分野で用いられていた遷移金属化学の知見を、ケミカルバイオロジー研究へと転用するというユニークなアプローチを取ることで、非常にコンパクトな官能基をタグとして用いるアフィニティー精製法の開発に成功した。本手法では、既存法では同定できなかった修飾ペプチドの精製・同定にも成功しており、今後標的タンパク質の同定に貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：In chemical biology research, affinity labeling is useful for the identification of target protein and binding site of bioactive compounds. However, in order to identify the labeled peptides from a large amount of unmodified peptides, it is important to purify the labeled peptide efficiently. In this study, a new affinity purification method for labeled peptides was developed by using a compact functional group as a tag and capturing the tag by transition metal complex.

研究分野：ケミカルバイオロジー、有機金属化学

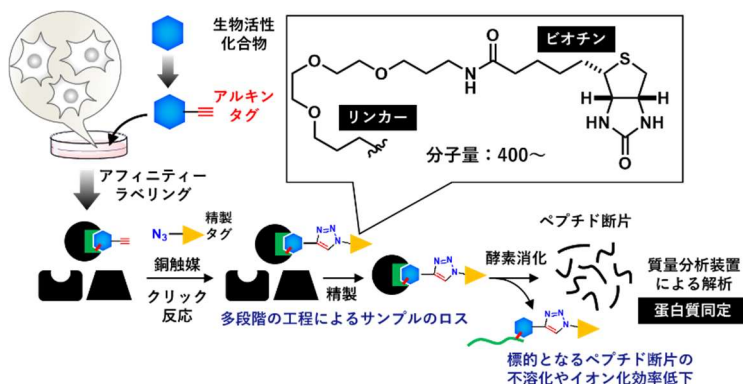
キーワード：アフィニティー精製 タグ 修飾ペプチド 遷移金属 パラジウム

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

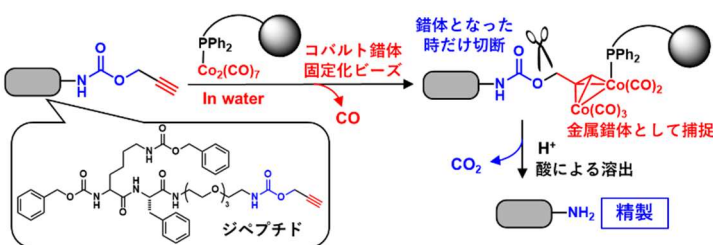
アフィニティーラベリングによる生物活性化合物の標的タンパク質や結合部位の決定は、生物活性化合物にタグを導入し、修飾されたタンパク質やそれを酵素消化して得られるペプチドを検出・同定することによって行われる。しかし多量の非修飾ペプチドの共存下で目的とする修飾ペプチドを同定することは容易ではない場合も多く、同定の効率化のためには、タグを導入した生物活性化合物でラベルされたペプチドを効率的に精製することが必要となる。

一般的にはアルキンやアジドをタグとして標的化合物に導入し、クリック反応でビオチンを導入したのちに精製を行う(右図)。しかしながら、クリック反応の際に多段階の操作を行うためにサンプルをロスしたり、導入したビオチンタグがペプチドの物性に影響して不溶化させたり、イオン化効率を悪くさせたりすることなどが問題となっていた。

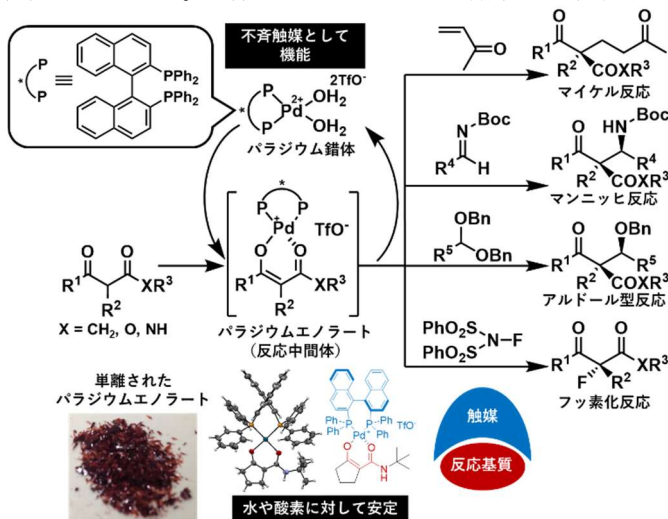


2. 研究の目的

このような背景で我々は、これまでにクリック反応で用いられるアルキンタグに対してコバルト錯体を担持したビーズを用いることで、アルキン修飾されたペプチドを直接捕捉・精製することに成功している (*Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*, 7667; *Chem. Eur. J.*, **2014**, *20*, 8116, 右図)。

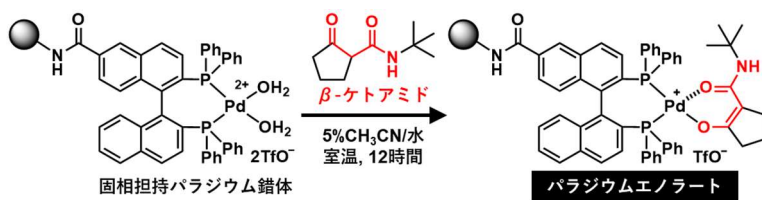


そこで本研究をさらに発展させ、アルキン以外のコンパクトな官能基をタグとして遷移金属錯体で捕捉・精製する手法の開発を目指すことにした。具体的にはこれまで申請者らが開発してきた様々な不斉触媒反応で、触媒として用いてきたパラジウム錯体に着目した(右図)。本パラジウム錯体はβ-ケトカルボニル化合物と反応してパラジウムエノラートを反応中間体として生じ、これが求電子剤と反応することで、様々な生成物を与える。この際に生じるパラジウムエノラートは単離することができ、空气中や水存在下でも安定に存在するという非常にユニークな特性を持っていた(右図、*Tetrahedron*, **2015**, *71*, 6594.)。そこでこの特性を生かし、β-ケトカルボニル化合物をタグとし、固相に担持したパラジウム錯体によりパラジウムエノラートとして捕捉・精製することを目的として研究を開始した。



3. 研究の方法

合成上の汎用性やパラジウムエノラートの安定性、生成速度などを勘案し、β-ケトアミドをタグとして選び、パラジウム錯体を担持した固相担体を調製した上で、計画通りパラジウムエノラートとして捕捉できるかどうか概念実証を行うことにした(右上図)。その結果、水系溶媒で固相に担持したパラジウム錯体とβ-ケトアミド化合物からパラジウムエノラートが生成することが確認された。そこで、本固相担持パラジウム錯体を用いて様々なβ-ケトアミド化合物の捕捉効率を比較したところ、benzoylacetamide(Bza)が非常に効率よく捕捉可能なタグとして



カテプシンB

Bza-FG-AOMK
による標識

酵素消化

ペプチド混合物

パラジウム錯体
による精製

MALDI-TOF MS
による解析

シグナル強度

溶出画分

m/z (分子量)

修飾ペプチド

Bza-FG-MK

DQGSCGSCWAFGAVEAISR

阻害剤の
結合部位同定に成功

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Hayamizu Kenji, Koike Kota, Dodo Kosuke, Asanuma Miwako, Egami Hiromichi, Sodeoka Mikiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Simple purification of small-molecule-labelled peptides <i>via</i> palladium enolate formation from β -ketoamide tags	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 8249~8254
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D2SC03112D	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 —

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 4件／うち国際学会 3件）

1. 発表者名 どど孝介
2. 発表標題 蛋白質アダクトの同定を目指したアルキンタグ解析技術の開発
3. 学会等名 第49回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小池晃太, どど孝介, 則次恒太, 伊藤昭博, 袖岡幹子
2. 発表標題 タンパク質アシル化の同定を指向したアルキン修飾ペプチド直接濃縮法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Transition Metal Enolate Chemistry: Past, Present, and Future
3. 学会等名 The 23th International Conference on Organic Synthesis (23-ICOS)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Transition Metal Enolate Chemistry: Past, Present, and Future
3. 学会等名 The Bowei Research Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Mikiko Sodeoka
2. 発表標題 Purification of Ketoamide-tagged Molecules
3. 学会等名 Asian Chemical Biology Initiative 2024 Istanbul Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024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
研究 分担 者	どど 孝介	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・専任研究員	
	(Dodo Kosuke)		
	(20415243)	(82401)	

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