

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H02848

研究課題名（和文）タンパク質熱変性状態の検出に立脚した生物活性物質の標的同一法

研究課題名（英文）Target identification of bioactive molecules based on detection of protein denaturation state

研究代表者

佐藤 伸一（Sato, Shinichi）

東北大学・学際科学フロンティア研究所・助教

研究者番号：20633134

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、非変性時においては、タンパク質内部構造に埋もれており、熱変性過程において、タンパク質の表面に露出する芳香族アミノ酸残基の特徴に着目した。これらの残基に対する化学修飾法の開発に取り組んだ。我々が開発したチロシン残基特異的ラベル化反応は、タンパク質表面に露出したチロシン残基で起こるため、タンパク質の熱変性度を高精度に可視化できる手法になると考え、実用的かつ効率的なタンパク質構造中のチロシン残基修飾法を開発した。また、本研究の副次的な成果によって、タンパク質のヒスチジン残基を修飾する手法の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではタンパク質熱変性を可視化する手法を目指し、タンパク質構造上の芳香族アミノ酸残基の化学修飾法を開発した。本研究によって開発されたチロシン残基修飾法は従来法に比べ効率が高く、タンパク質表面上のチロシン残基に選択性が高いという特徴がある。本手法はタンパク質製剤の機能化、タンパク質間相互作用に寄与する部位構造の状態解析、翻訳後修飾状態の解析等、種々の用途での活用が期待できる。また、本研究によって開発された触媒の近接環境で完結するヒスチジン残基修飾反応は、プロテオミクス解析技術と組み合わせることによって、タンパク質の会合状態の把握を可能にする重要な基盤技術になると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on the characteristics of aromatic amino acid residues that are buried within the internal structure of proteins in their native state but exposed on the protein surface during the thermal denaturation process. We have developed chemical modification methods targeting tyrosine and histidine residues. The tyrosine residue-specific labeling reaction we developed specifically targets the exposed tyrosine residues on the protein surface. Our aim was to visualize the protein's thermal denaturation state, and for this purpose, we have developed a practical and efficient approach for modifying tyrosine residues in protein structures. Additionally, as a secondary outcome of this study, we successfully developed a method for modifying histidine residues in proteins.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：タンパク質化学修飾 チロシン ヒスチジン proximity labeling 熱変性 タンパク質表面

1. 研究開始当初の背景

タンパク質の熱変性は一般性の高い不変的なタンパク質挙動であり、どのような温度でタンパク質のフォールディングが変化するかは、タンパク質構造のアミノ酸配列、翻訳後修飾、そのタンパク質の周辺環境、相互作用状態に依存して変化する。特に、生物活性分子とタンパク質の相互作用によって、タンパク質の熱変性抵抗性が変化する現象は、生物活性分子の新たな標的特定法として注目されている。Cellular Thermal Shift Assay (CETSA) は細胞に生物活性分子を処理することで変化する標的タンパク質の熱変性挙動を観測する手法である。CETSA では、各温度条件下の加熱によって、熱変性、凝集、沈殿したタンパク質を遠心分離によって除去することによって得られるフラクションに各タンパク質がどの程度残っているかを観測する方法が採用されている。一方で、変性の初期過程のタンパク質のフォールディングが崩れ始める段階を観測する手法に目を向けると、精製タンパク質を対象にした手法は存在するものの、タンパク質混在系において、変性状態のタンパク質（もしくは変性部位構造）を特定する方法は、ほとんど開発されていない現状である。

2. 研究の目的

研究背景を踏まえた上で、以下のような学術的な問いを抱いた。CETSA では熱変性と凝集の2段階を経たタンパク質を系中から除去し、残ったタンパク質を解析するのに対して、“熱変性したタンパク質に選択的なタンパク質標識”が可能になれば、より直接的にタンパク質の熱安定性を定量することができ、細胞全タンパク質に対して網羅的に、熱安定性の変化を高精度に検出することができるのではないかとタンパク質の部分構造毎の熱変性度を定量できれば、生物活性物質の結合タンパク質同定のみならず、結合サイトを同定する手法になるのではないかと考えた。

そこで本研究ではタンパク質構造中のチロシン残基に着目した。タンパク質の熱変性と凝集は、疎水性環境下の残基がタンパク質表面へと露出することに起因するものである。既知のチロシン残基の吸光度解析においては、熱変性によりタンパク質内部に埋もれている疎水性のチロシン残基がタンパク質表面に露出することが分かっている (*J. Biochem. Biophys. Methods* 1997)。そこで、タンパク質表面に露出するチロシン残基を選択的かつ、効率的に標識する手法の開発を目指した (図1)。それによって、タンパク質混在系においても熱変性初期過程で露出するタンパク質の変性部位をプロテオミクス技術によって特定できる手法を目指した。

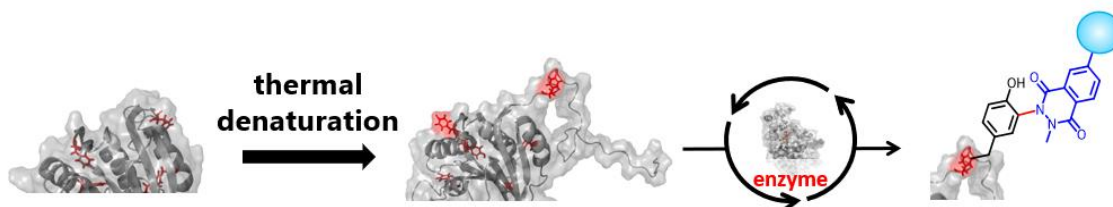


図1. タンパク質の熱変性による Tyr 残基の露出とそれを捕捉するタンパク質修飾反応

また、研究を展開するにあたって、細胞内で変性するタンパク質を観測するために、細胞内環境で機能するタンパク質化学修飾反応を制御する必要があった。細胞破砕液を使った用途に留まらず、細胞内環境におけるタンパク質の変性挙動を観測するためにも、手法論の拡張は必要と考えた。そこで、以下に記載する研究方法により研究を進展させ、細胞内外の触媒の近接環境でタンパク質を化学修飾する手法に関しても、上記の熱変性タンパク質検出と同時に展開することとした。

3. 研究の方法

(1) タンパク質表面の Tyr 残基を選択的に化学修飾する方法の開発

我々は以前からタンパク質 Tyr 残基の化学修飾法開発を研究対象としており、一電子移動反応を触媒する触媒分子/酵素を用いた方法を開発してきた¹⁻³。生理的な環境下における一電子移動反応の制限距離は 1.4 nm と短い距離で起きる⁴。また、生じるラジカル種も短寿命であるため、触媒分子/酵素分子の活性中心の近傍空間で選択的に発生し、広く拡散することなく消失する。よって、一般的には、ラジカル種の発生を介した Tyr 修飾反応はタンパク質の表面で起きる反応に限られる。特に、酵素を用いた場合には、酵素の活性中心と近接できる Tyr 残基はタンパク質表面上の Tyr 残基に限定されるため、タンパク質表面への露出度に依存性の高い Tyr 修飾反応になると考え、horseradish peroxidase (HRP) を用いた Tyr 修飾反応の反応特性を評価した。

(2) Tyr 修飾法の効率性と熱変性誘導環境で機能する修飾法の開発

タンパク質熱変性後のサンプルに対して、チロシン残基修飾反応を適用し、手法を検証したが、

動的にタンパク質表面に露出する Tyr 残基を十分な効率的で標識することができなかった。その原因として、熱変性後では、既に疎水性構造どうしの凝集が進行しており、酵素反応による Tyr 修飾の良い基質になり得なかったことが原因であると考えた。そこで、加熱時の反応系中においても問題なく進行する Tyr 修飾反応を検証した。Laccase は溶存酸素を酸化の駆動力として一電子移動反応を触媒する酵素であり、高温条件においても機能することが知られている。そこで、天野エンザイム社のラッカーゼ Y120 を用いてタンパク質 Tyr 残基の修飾反応条件を検討した。

(3) 細胞内環境で機能する光触媒近接修飾反応の開発

細胞内環境でも機能する Tyr 修飾反応を検討すべく、膜透過性に優れるであろう種々の色素分子を光触媒候補分子としてスクリーニング的に評価した。また、得られた修飾剤構造を Halo-tag テクノロジーを活用することで、細胞内の特定座標に結合させ、その周辺環境で選択的に進行するタンパク質標識を実施した。標識されたタンパク質を濃縮し、質量分析によって同定することで、光触媒駆動型のタンパク質修飾反応が、触媒分子周辺数ナノメートルの近接依存性で進行していることを明らかにした。

(4) 光触媒近接環境での His 残基修飾反応の開発

光触媒によるタンパク質化学修飾を質量分析によって解析する過程で、Tyr 以外のアミノ酸残基上で反応が進行していることが分かった。詳細な検討の結果、His 残基上で酸化反応と修飾反応が同時に進行していることが示唆された。そこで、結合様式を明らかにすべく、基質構造や溶媒、光触媒構造、光照射条件等の種々の反応条件を検討し、最終的に NMR によって結合様式を明らかにした。

また、本反応は光触媒から発生する一重項酸素 (1O_2) を介して進行していることが、反応メカニズムの検証から明らかとなった。 1O_2 もまた、高反応性の化学種であるため、光触媒の近接環境で選択的に His 修飾反応を制御できると考えた。そこで、磁気ビーズ表面に光触媒と抗体の Fc 領域に対するリガンドを担持し、ビーズ表面上の反応場で抗体 Fc 領域の His 残基を選択的に標識することを試みた。

(5) Tyr/His 残基修飾反応の制御

一電子移動反応によって生じるラジカル種によって、Tyr 残基が修飾され、光触媒と酸素分子のエネルギー移動反応によって、生じる 1O_2 によって、His 残基が修飾される。そこで、光触媒構造を種々検討することによって、Tyr 残基、His 残基それぞれの修飾反応を効率的に、また選択的に触媒できる分子を見出せると考え、種々の色素分子による Tyr/His 残基修飾反応の効率を評価した。

また、色素分子の種類によっては、置かれている環境に依存してその特性が大きく変化することが知られている。共同研究者の岡本は Ru(bpy)₂dppz 錯体がタンパク質の疎水性ポケットに相互作用することで、その蛍光特性が変化することを見出していた。そこで、Ru(bpy)₂dppz 錯体とタンパク質の複合体の触媒特性を詳細に検討した。

4. 研究成果

(1) タンパク質表面の Tyr 残基を選択的に化学修飾する方法の開発

Tyr 残基修飾反応を触媒する酵素として horseradish peroxidase (HRP) を用い、*N*-methylated luminol derivative を Tyr 残基に修飾する反応を検討した。複数のタンパク質を基質にした反応を実施し、被修飾タンパク質のトリプシン消化とそれに続く質量分析もしくは HPLC 解析によって、修飾部位を明らかにした。その結果、修飾反応が特定の部位で選択的に進行していることが明らかとなった。各 Tyr 残基のタンパク質表面への露出度を solvent accessibility を指標に被修飾効率を照らし合わせたところ、修飾反応はタンパク質表面に露出する Tyr 残基選択的に進行していることを明らかにした⁵。

また、抗体構造中の Tyr 残基においては、相補性決定領域 (complementarity-determining region, CDR) に選択的にタンパク質表面に出現することに注目した。そこで、上記のタンパク質表面の Tyr 残基選択的修飾反応を利用し、CDR を部位選択的に機能化した。CDR を修飾した抗体は一定の抗原認識能を有していた。CDR に特定の蛍光団を導入することによって、抗原非存在下においては蛍光がクエンチし、抗原の添加によって蛍光の輝度が上昇することが東工大の上田らによって報告されている⁶。そこで、上田教授との共同研究によって、CDR 領域を部位選択的に化学修飾した全長抗体が、蛍光免疫センサー分子と機能することを明らかにした⁷。

(2) Tyr 修飾法の効率性と熱変性誘導環境で機能する修飾法の開発

ペプチドやタンパク質を基質に用いた検討によって、Laccase が *N*-methylated luminol derivative と Tyr 残基の修飾反応を効率的に触媒することを見出した^{8,9}。HRP と異なり、酸化剤の添加を必要とせず、バッファー中の酸素分子を酸化の駆動力とした温和な反応条件によって、効率的な Tyr 修飾反応が進行することを明らかにした。Laccase を用いた Tyr 修飾反応は高温条件でも問題なく進行し、70°C の反応条件においても、37°C と同程度の修飾効率で Tyr 残基を標識することが可能であった。生物活性分子の添加による熱変性抵抗性の変化を、Laccase を使った修飾反応により検出することにも成功した (2023 年 6 月現在、未発表データ)。

(3) 細胞内環境で機能する光触媒近接修飾反応の開発

光触媒候補分子スクリーニングの結果、Acriflavine 誘導体が、1-methyl-4-aryrazole (MAUra) 誘導体と Tyr 残基間の共有結合形成反応を優れた効率で触媒することを見出した。細胞核内のタンパク質である H2B に HaloTag を融合させたタンパク質を強制発現し、H2B の周辺環境に存在するタンパク質を標識し、質量分析によって同定した。その結果、HaloTag-H2B 近傍の約 6 nm の周辺環境でタンパク質修飾反応が制御できることを見出した¹⁰。

また、項目(4)の His 修飾反応を触媒する分子として見出した BODIPY 誘導体を用いた触媒近接標識についても細胞内環境での反応制御を試みた。その結果、核内で選択的な標識反応が進行することを明らかにした¹¹。

(4) 光触媒近接環境での His 残基修飾反応の開発

質量分析による解析から偶然に見出した His 残基修飾反応がどのようなメカニズムで進行しているのか、どのような結合様式で修飾反応が進行しているのかを明らかにした。光触媒から発生した 1O_2 は近傍の His 残基を酸化し、短寿命性の endoperoxide 体を生成する。系中に共存している修飾剤 MAUra は生理的な pH 環境下ではアニオン型で存在する割合が高く、高い求核性を有している。求電子性の endoperoxide 体に対して求核剤である MAUra が反応することによって、His 修飾反応が進行することが示唆された(図2)。また、磁気ビーズ上に構築した反応場を利用することで、抗体の Fc 領域を選択的に修飾することに成功した¹²。

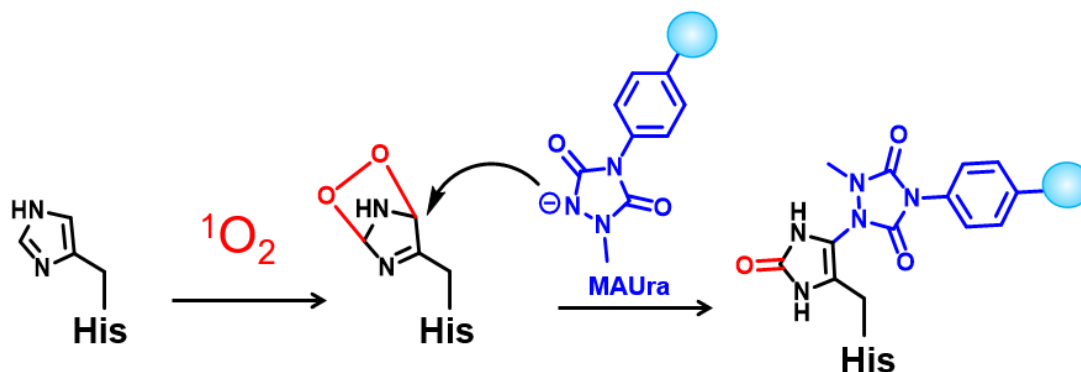


図2. 本研究で明らかにした His 残基修飾反応のメカニズム

(5) Tyr/His 残基修飾反応の制御

種々の光色素の構造を検討した。その結果、Tyr 残基修飾と His 残基修飾のそれぞれに適切な光触媒分子構造を選定することに成功した。我々が検討したものの中では、Acriflavine (ATTO465) 誘導体が高い Tyr 残基修飾触媒能を有し、BODIPY 誘導体が高い His 残基修飾触媒能を有していた(図3)。ラジカル特性と求核性を併せ持つ分子 MAUra を修飾剤として用いたタンパク質修飾においては、触媒構造を変換することで、修飾できるアミノ酸残基を Tyr と His で選択可能であることが示された¹¹。

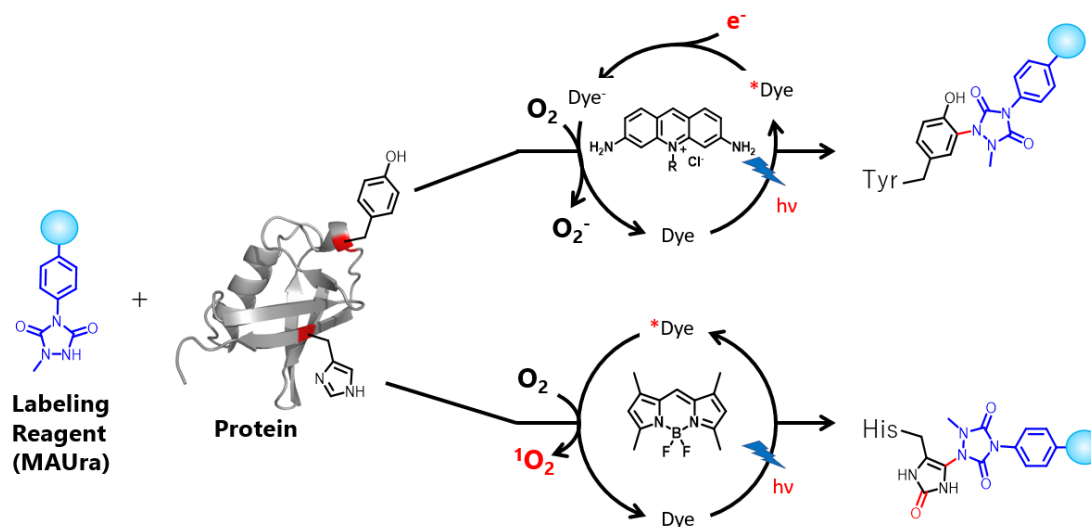


図3. 光触媒による Tyr 残基と His 残基の化学修飾

Ru(bpy)₂dppz 錯体とタンパク質の複合体の形成による反応特性の変化を詳細に検討した。その結果、Ru(bpy)₂dppz 錯体単独では、効率的な一電子移動反応を触媒し、Tyr 残基修飾のための優れた触媒となることが分かった。その一方で、Ru(bpy)₂dppz 錯体がリボフラビン結合タンパク質の疎水性ポケットに結合した複合体（人工金属酵素）においては、一電子移動反応の触媒特性は失われ、代わりに、高い蛍光特性と ¹O₂ 産生能を獲得することが分かった。実際に人工金属酵素の状態では Tyr 修飾反応は触媒せずに、His 修飾反応を触媒することが分かった。すなわち、触媒分子を変えることだけでなく、触媒分子が置かれている環境を変えることで、Tyr 残基修飾と His 残基修飾反応の触媒能をスイッチングさせることに成功した¹³。

<引用文献>

1. Sato S., Nakamura K., Nakamura H., Tyrosine-Specific Chemical Modification with in situ Hemin-Activated Luminol Derivatives. *ACS Chem. Biol.* **10**, 2633-2640. (2015)
2. Sato S., Nakamura K., Nakamura H., Horseradish-Peroxidase-Catalyzed Tyrosine Click Reaction. *ChemBioChem* **18**, 475-478 (2017)
3. Sato S., Yoshida M., Hatano K., Matsumura M., Nakamura H. N'-acyl-N-methylphenylenediamine as a novel proximity labeling agent for signal amplification in immunohistochemistry. *Bioorg. Med. Chem.* **27**, 1110-1118 (2019)
4. Page C. C., Moser C. C., Chen X., Dutton P. L., Natural Engineering Principles of Electron Tunnelling in Biological Oxidation-reduction. *Nature* **402**, 47-52 (1999)
5. Sato S., Matsumura M., Kadonosono T., Abe S., Ueno T., Ueda H., Nakamura H., Site-Selective Protein Chemical Modification of Exposed Tyrosine Residues Using Tyrosine Click Reaction. *Bioconjugate Chem.* **31**, 1417-1424 (2020)
6. Abe R., Ohashi H., Iijima I., Ihara M., Takagi H., Hohsaka T., Ueda H., "Quenchbodies": Quench-Based Antibody Probes That Show Antigen-Dependent Fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 17386-17394 (2011)
7. Sato S., Matsumura M., Ueda H., Nakamura H., Preparation of antigen-responsive fluorogenic immunosensor by tyrosine chemical modification of antibody complementarity determining region. *Chem. Commun.* **57**, 9760-9763 (2021)
8. Sato S., Nakane K., Nakamura H., A Laccase-Catalysed Tyrosine Click Reaction. *Org. Biomol. Chem.* **18**, 3664-3668 (2020)
9. Obara S., Nakane K., Fujimura C., Tomoshige S., Ishikawa M., Sato S., Functionalization of Human Serum Albumin by Tyrosine Click, *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 8676 (2021)
10. Tsushima M., Sato S., Miura K., Niwa T., Taguchi H., Nakamura H., Intracellular photocatalytic-proximity labeling for profiling protein-protein interactions in microenvironments. *Chem. Commun.* **58**, 1926-1929 (2022)
11. Nakane K., Nagasawa H., Fujimura C., Koyanagi E., Tomoshige S., Ishikawa M., Sato S., Switching of Photocatalytic Tyrosine/Histidine Labeling and Application to Photocatalytic Proximity Labeling. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 11622 (2022)
12. Nakane K., Sato S., Niwa T., Tsushima M., Tomoshige S., Taguchi H., Ishikawa M., Nakamura H., Proximity Histidine Labeling by Umpolung Strategy Using Singlet Oxygen. *J. Am. Chem. Soc.* **143**, 7726-7731 (2021)
13. Okamoto Y., Mabuchi T., Nakane K., Ueno A., Sato S. Switching Type I/Type II Reactions by Turning a Photoredox Catalyst into a Photo-Driven Artificial Metalloenzyme, *ACS, Catal.* **13**, 4131-4141 (2023)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 21件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okamoto Yasunori, Mabuchi Takuya, Nakane Keita, Ueno Akiko, Sato Shinichi	4. 巻 13
2. 論文標題 Switching Type I/Type II Reactions by Turning a Photoredox Catalyst into a Photo-Driven Artificial Metalloenzyme	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Catalysis	6. 最初と最後の頁 4134 ~ 4141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.2c05946	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 Nakane Keita, Nagasawa Haruto, Fujimura Chizu, Koyanagi Eri, Tomoshige Shusuke, Ishikawa Minoru, Sato Shinichi	4. 巻 23
2. 論文標題 Switching of Photocatalytic Tyrosine/Histidine Labeling and Application to Photocatalytic Proximity Labeling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 11622 ~ 11622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms231911622	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 Nakane Keita, Niwa Tatsuya, Tsushima Michihiko, Tomoshige Shusuke, Taguchi Hideki, Nakamura Hiroyuki, Ishikawa Minoru, Sato Shinichi	4. 巻 14
2. 論文標題 BODIPY Catalyzes Proximity Dependent Histidine Labelling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ChemCatChem	6. 最初と最後の頁 e202200077
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cctc.202200077	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 Nakane Keita, Sato Shinichi, Niwa Tatsuya, Tsushima Michihiko, Tomoshige Shusuke, Taguchi Hideki, Ishikawa Minoru, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 143
2. 論文標題 Proximity Histidine Labeling by Umpolung Strategy Using Singlet Oxygen	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 7726 ~ 7731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.1c01626	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 Obara Satsuki, Nakane Keita, Fujimura Chizu, Tomoshige Shusuke, Ishikawa Minoru, Sato Shinichi	4. 巻 22
2. 論文標題 Functionalization of Human Serum Albumin by Tyrosine Click	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8676 ~ 8676
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22168676	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 Sato Shinichi, Matsumura Masaki, Ueda Hiroshi, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 57
2. 論文標題 Preparation of an antigen-responsive fluorogenic immunosensor by tyrosine chemical modification of the antibody complementarity determining region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 9760 ~ 9763
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1cc03231c	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 Tsushima Michihiko, Sato Shinichi, Miura Kazuki, Niwa Tatsuya, Taguchi Hideki, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Intracellular photocatalytic-proximity labeling for profiling protein-protein interactions in microenvironments	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 1926 ~ 1929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1cc05764b	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 Nakane Keita, Niwa Tatsuya, Tsushima Michihiko, Tomoshige Shusuke, Taguchi Hideki, Nakamura Hiroyuki, Ishikawa Minoru, Sato Shinichi	4. 巻 -
2. 論文標題 BODIPY Catalyzes Proximity Dependent Histidine Labelling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ChemCatChem	6. 最初と最後の頁 e202200077
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cctc.202200077	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 Masuzawa Tatsuki, Sato Shinichi, Niwa Tatsuya, Taguchi Hideki, Nakamura Hiroyuki, Oyoshi Takanori	4. 巻 56
2. 論文標題 G-quadruplex-proximity protein labeling based on peroxidase activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 11641 ~ 11644
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0CC02571B	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 Sato Shinichi, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 68
2. 論文標題 Labeling of Peroxide-Induced Oxidative Stress Hotspots by Hemin-Catalyzed Tyrosine Click	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 885 ~ 890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c20-00434	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 Sato Shinichi, Nakane Keita, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 18
2. 論文標題 A laccase-catalysed tyrosine click reaction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 3664 ~ 3668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D00B00650E	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 Sato Shinichi, Matsumura Masaki, Kadonosono Tetsuya, Abe Satoshi, Ueno Takafumi, Ueda Hiroshi, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 31
2. 論文標題 Site-Selective Protein Chemical Modification of Exposed Tyrosine Residues Using Tyrosine Click Reaction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1417 ~ 1424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.0c00120	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 Tsushima Michihiko, Sato Shinichi, Niwa Tatsuya, Taguchi Hideki, Nakamura Hiroyuki	4. 巻 55
2. 論文標題 Catalyst-proximity protein chemical labelling on affinity beads targeting endogenous lectins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 13275 ~ 13278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9CC05231C	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76件 (うち招待講演 21件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 高反応性化学種によるタンパク質修飾の反応空間制御
3. 学会等名 慶應有機化学若手シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中根啓太, 丹羽達也, 對馬理彦, 田口英樹, 中村浩之, 友重秀介, 石川稔, 佐藤伸一
2. 発表標題 BODIPYを触媒とした近接ヒスチジン修飾
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中根啓太, 丹羽達也, 宮野翔伍, 田口英樹, 友重秀介, 石川稔, 佐藤伸一
2. 発表標題 高効率チロシン残基修飾技術の創出とケミカルプロテオミクスへの応用
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 タンパク質変性に注目したケミカルプロテオミクス
3. 学会等名 2022 FRIS/TI-FRIS 若手研究者学際融合領域研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤 伸一, 中根 啓太, 丹羽 達也, 西 羽美, 友重 秀介, 田口 英樹, 石川 稔
2. 発表標題 酸化酵素 Laccaseを用いたチロシン残基選択的標識法の開発とTyrosinome解析への応用
3. 学会等名 第16回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichi Sato, Shogo Miyano, Keita Nakane, Yuya Tanaka, Shusuke Tomoshige, Minoru Ishikawa
2. 発表標題 Tyrosine Click Using Urazole Radical Reagents
3. 学会等名 第59回ペプチド討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Keita Nakane, Haruto Nagasawa, Shusuke Tomoshige, Minoru Ishikawa, Shinichi Sato
2. 発表標題 Investigation of Photocatalyst for Tyrosine/Histidine Labeling
3. 学会等名 第59回ペプチド討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 高反応性化学種による触媒近接標識法と核酸結合タンパク質の同定
3. 学会等名 核酸化学若手フォーラム2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Keita Nakane, Tatsuya Niwa, Hideki Taguchi, Shusuke Tomoshige, Minoru Ishikawa, Shinichi Sato
2. 発表標題 Protein Functionalization and Chemical Proteomics Profiling Based on Highly Efficient Tyrosine Labeling Reaction
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 チロシン/ヒスチジン残基修飾法の開発と抗体の部位選択的修飾への応用
3. 学会等名 第39回メディシナルケミストリーシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichi Sato
2. 発表標題 Photocatalytic Chemical Labeling of Tyrosine/Histidine Residues and Application to Proximity Labeling
3. 学会等名 International Congress on Pure & Applied Chemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichi Sato, Shogo Miyano, Keita Nakane, Yuya Tanaka, Shusuke Tomoshige, Minoru Ishikawa
2. 発表標題 Tyrosine Click Using Urazole Radical and Tyrosinome Analysis
3. 学会等名 11th Annual Conference of the International Chemical Biology Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Keita Nakane, Tatuya Niwa, Hafumi Nishi, Shusuke Tomoshige, Hideki Taguchi, Minoru Ishikawa, Shinichi Sato
2. 発表標題 Protein Functionalization and Chemical Proteomics Profiling Based on Highly Efficient Tyrosine Labeling Reaction
3. 学会等名 11th Annual Conference of the International Chemical Biology Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 チロシン/ヒスチジン残基の修飾制御と抗体修飾への応用
3. 学会等名 第37回ケムステVシンポ「抗体修飾法の最前線 ADC製造の基盤技術」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 タンパク質の変性を可視化する蛍光プローブ
3. 学会等名 JST創発自発的な融合の場 第1回分子生命反応 創発討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中根啓太, 佐藤伸一
2. 発表標題 近赤外光駆動型近接標識の開発とビーズ結合タンパク質解析
3. 学会等名 JST創発自発的な融合の場 第1回分子生命反応 創発討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 光触媒を使ったタンパク質修飾法の開発と近接標識
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー 「蛋白質に挑戦する化学」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 チロシン残基の状態観測を目指したケミカルプロテオミクス
3. 学会等名 日本農芸化学会2023年度大会(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 チロシン残基修飾法の開発とケミカルプロテオミクスへの応用
3. 学会等名 日本薬学会第143年会(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中根 啓太, 星野 有輝, どど 孝介, 友重 秀介, 石川 稔, 古山 渓行, 佐藤 伸一
2. 発表標題 近赤外光を駆使したアフィニティーピース表面上で進行する近接標識技術
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 對馬理彦, 三浦一輝, 佐藤伸一, 丹羽達也, 田口英樹, 中村浩之
2. 発表標題 細胞内タンパク質間相互作用解析のための光触媒近接タンパク質標識法の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第15回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根啓太, 丹羽達也, 對馬理彦, 田口英樹, 友重秀介, 中村浩之, 石川稔, 佐藤伸一
2. 発表標題 一重項酸素を活用したヒスチジン残基近接標識法の開発
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第16回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 色素分子のレドックス特性と光増感特性を活用したタンパク質化学修飾
3. 学会等名 第43回日本光医学・光生物学会 シンポジウム 光機能分子の最前線：光と分子ができること（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 高反応性化学種を使った抗体の化学修飾
3. 学会等名 令和3年度 後期第3回 全領域合同研究交流会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 生命科学研究への応用を指向したタンパク質化学修飾反応の開発
3. 学会等名 東北大学生命科学交流ミーティング（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根啓太, 宮野翔伍, 友重秀介, 石川稔, 佐藤伸一
2. 発表標題 酸化酵素を用いた高効率チロシン残基修飾反応
3. 学会等名 生体機能関連化学部会若手の会 第32回サマースクール
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一, 中根啓太, 宮野翔吾, 友重秀介, 石川稔
2. 発表標題 酵素を用いたチロシン残基特異的修飾反応
3. 学会等名 第53回ペプチド夏の勉強会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根啓太, 丹羽達也, 對馬理彦, 田口英樹, 友重秀介, 中村浩之, 石川稔, 佐藤 伸一
2. 発表標題 一重項酸素を駆使したヒスチジン残基近接標識法
3. 学会等名 第53回ペプチド夏の勉強会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一, 中根啓太, 丹羽達也, 對馬理彦, 田口英樹, 中村浩之, 友重秀介, 石川稔
2. 発表標題 一重項酸素を活用したヒスチジン残基化学修飾
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根啓太, 宮野翔伍, 友重秀介, 石川稔, 佐藤伸一
2. 発表標題 酸化酵素 laccaseを用いた高効率チロシン残基特異的修飾
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 酸素代謝を活用したタンパク質化学修飾と近接標識への応用
3. 学会等名 第27回医用近赤外線分光法研究会・第25回酸素ダイナミクス研究会 合同研究会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 有機化学の力でタンパク質を機能化する
3. 学会等名 明治薬科大学 令和3年度 第一回化学系若手研究者講談（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 生理活性ペプチド機能化ツールとしてのチロシン残基化学修飾法の開発
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会 シンポジウム「生理活性ペプチドと中分子創薬～新たな創薬ブレイクスルーを目指して」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keita Nakane, Tatsuya Niwa, Michihiko Tsushima, Hideki Taguchi, ShusukeTomoshige, Hiroyuki Nakamura, Minoru Ishikawa, Shinichi Sato
2. 発表標題 Development of proximity labeling via histidine oxidation by singlet oxygen and Fc-selective functionalization of antibody
3. 学会等名 The 10th Annual Conference of The International Chemical Biology Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一, 中根啓太, Ahmed Mostafa Abdelhady, 増澤樹, 大吉崇文, 友重秀介, 石川稔, 永次史, 鬼塚和光
2. 発表標題 核酸結合タンパク質同定のための近接標識法開発
3. 学会等名 第8回東北大学若手研究者アンサンブルワークショップ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinichi Sato
2. 発表標題 Site-specific modification of antibody using enzyme-catalyzed tyrosine click
3. 学会等名 Tohoku University FRIS-Konkuk University Joint Virtual Workshop 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinichi Sato
2. 発表標題 Site-selective antibody fluorescent labeling using single-electron transfer reaction
3. 学会等名 Pacifichem 2021, Scientific Program of Symposium "Fluorescent Chemical Tools for Exploring Protein Functions through Organic Chemistry" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 高反応性化学種を活用した抗体の残基・部位選択的武装化
3. 学会等名 星薬科大学-理研-東北大学医薬品開発研究センターシンポジウム 第4回 精密武装抗体の合成と機能評価 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinichi Sato
2. 発表標題 Tyrosine Labeling and Preparation of Antigen-Responsive Fluorogenic Immunosensor
3. 学会等名 Korea-Japan Joint Workshop on Biofunctional Chemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichi Sato
2. 発表標題 Intracellular photocatalytic-proximity labeling for profiling proteoin-protein interactions
3. 学会等名 東北大学後期第5回全領域合同研究交流会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中根 啓太, 宮野 翔伍, 友重 秀介, 石川 稔, 佐藤 伸一
2. 発表標題 酸化酵素laccaseを用いた高効率チロシン残基特異的修飾の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ahmed Mostafa Abdelhady, Kazumitsu Onizuka, Tatsuki Masuzawa, Shinichi Sato, Takanori Oyoshi, Fumi Nagatsugi
2. 発表標題 Selective photo-labelling of G4 DNA-binding protein
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 樋口 凜, 中根 啓太, 佐藤 伸一, 友重 秀介, 石川 稔
2. 発表標題 チロシン残基のグリコシル化を基盤としたA 凝集抑制手法
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 小原 紗月, 中根 啓太, 藤村 千鶴, 友重 秀介, 石川 稔, 佐藤 伸一
2. 発表標題 チロシン残基修飾法によるヒト血清アルブミンの機能化
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 中根 啓太, 宮野 翔伍, 友重 秀介, 石川 稔, 佐藤 伸一
2. 発表標題 酸化酵素 laccase を用いた高効率チロシン残基特異的修飾
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 佐藤伸一
2. 発表標題 タンパク質表面に露出するチロシン残基に選択的な化学修飾法と蛍光免疫センサー分子の作成技術
3. 学会等名 第3回C01 学術交流会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤伸一, 増澤樹, 大吉崇文, 丹羽達也, 田口英樹, 中村浩之
2. 発表標題 ペルオキシダーゼ活性の変化と近接標識を利用したグアニン四重鎖結合タンパク質の選択的修飾
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 ラジカル的タンパク質化学修飾法の開発と応用による制御
3. 学会等名 有機・生命・計測科学研究交流セミナー(東北大学多元物質科学研究所)(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 Chemical Approach to Proximity-Labeling Proteomic Profiling
3. 学会等名 第 5回 FRIS若手研究者学際融合領域研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 タンパク質チロシン残基の化学修飾
3. 学会等名 学際高等研究教育院・学際科学フロンティア研究所共催 全領域合同研究交流会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 Development and Application of Photocatalyst-Proximity Protein Chemical Labeling
3. 学会等名 5th FRIS DIARE Joint Workshop
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 チロシン残基化学修飾法の開発による生体機能の解明
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮野 翔伍、友重 秀介、石川 稔、佐藤 伸一
2. 発表標題 新規修飾剤開発によるチロシン残基選択的修飾
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中根 啓太、丹羽 達也、對馬 理彦、田口 英樹、友重 秀介、中村 浩之、石川 稔、佐藤 伸一
2. 発表標題 Ru錯体担持アフィニティービーズを用いた抗体のFc領域選択的ヒスチジン残基修飾法の開発
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 對馬 理彦、佐藤 伸一、中村 浩之
2. 発表標題 細胞内微小空間で起こるタンパク質間相互作用の解析を可能にする光触媒近接タンパク質ラベル化法の開発
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤伸一
2. 発表標題 Site-Selective antibody modification using radical-mediated tyrosine click reaction
3. 学会等名 第56回ペプチド討論会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinichi Sato
2. 発表標題 Photocatalyst-Proximity-Dependent Protein Chemical Labeling
3. 学会等名 The 2nd Organic Radical Chemistry Symposium of China（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増澤樹、佐藤伸一、中村浩之、大吉崇文
2. 発表標題 ヘミンによって活性化したルミノール誘導体によるグアニン四重鎖結合タンパク質の選択的修飾
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 中根啓太、佐藤伸一、對馬理彦、丹羽達也、田口英樹、中村浩之
2. 発表標題 アフィニティー担体上でのチロシン残基修飾による抗体の部位選択的修飾
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 佐藤伸一、中村浩之
2. 発表標題 チロシン残基ラベル化における触媒的手法と電気化学的手法の比較
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 佐藤伸一、中根啓太、對馬理彦、中村浩之
2. 発表標題 ナノメートルスケールの局所反応場を利用したタンパク質ラベル化反応による抗体の部位特異的修飾
3. 学会等名 第78回有機合成化学協会関東支部シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinichi Sato, Michihiko Tsushima, Keita Nakane, Hiroyuki Nakamura
2. 発表標題 Site-selective antibody chemical modification using photocatalyst-proximity labeling reaction
3. 学会等名 The 2nd edition of the International Symposium of CEFMS-NCTU, RCAS-AS (Taiwan) and 5-star Alliance (Japan) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 對馬理彦、中根啓太、佐藤伸一、中村浩之
2. 発表標題 標的タンパク質の部位選択的ラベル化を志向した光触媒担持ビーズ上での近接ラベル化法の開発
3. 学会等名 第9回CSJ化学フェスタ2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinichi Sato, Michihiko Tsushima, Keita Nakane, Hiroyuki Nakamura
2. 発表標題 Photocatalyst-Proximity-Dependent Protein Chemical Modification
3. 学会等名 the 14th International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (ICCEOCA-14) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根啓太、對馬理彦、佐藤伸一、中村浩之
2. 発表標題 Ru光触媒担アフィニティーピースを駆使した抗体のFc領域選択的化學修飾の開発
3. 学会等名 第13回バイオ関連化學シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤伸一、松村雅喜、上田宏、中村浩之
2. 発表標題 チロシン残基修飾による抗体の部位選択的修飾と蛍光免疫センサー分子作成法への応用
3. 学会等名 第13回バイオ関連化學シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroyuki Nakamura, Shinichi Sato, Michihiko Tsushima, Keita Nakane
2. 発表標題 Protein Engineering Using Tyrosine-Specific Chemical Labeling Technology
3. 学会等名 11th Workshop on Organic Chemistry for Junior Chemists(WOCJC-11) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤伸一、松村雅喜、上田宏、中村浩之
2. 発表標題 抗体の部位選択的チロシン残基修飾に基づく蛍光免疫センサー分子の作成技術
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

1. 発表者名 中根啓太、對馬理彦、佐藤伸一、中村浩之
2. 発表標題 Ru光触媒担持アフィニティーピースを用いた抗体のFc領域選択的修飾法の開発
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

1. 発表者名 對馬理彦、佐藤伸一、中村浩之
2. 発表標題 アフィニティーピース上での触媒近接標識のためのラベル化剤開発
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

1. 発表者名 對馬理彦、佐藤伸一、中村浩之
2. 発表標題 Ru光触媒近傍で起こる一電子移動反応を利用した標的タンパク質のケミカルラベリング
3. 学会等名 第115回有機合成シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根啓太、對馬理彦、佐藤伸一、中村浩之
2. 発表標題 Ru光触媒担持アフィニティーピースを用いた抗体の部位選択的修飾法の開発
3. 学会等名 第77回有機合成化学協会関東支部シンポジウム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 蛍光標識抗体又は抗体断片	発明者 佐藤伸一、中村浩之、上田宏	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/27279	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 電気化学的手法を用いたハロゲン化製剤の製造方法	発明者 中村浩之、佐藤伸一、深瀬浩一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/50086	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 チロシンの修飾方法	発明者 佐藤伸一、中村浩之	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特許第6598286号	取得年 2019年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

佐藤伸一研究グループホームページ https://www2.fris.tohoku.ac.jp/~sato/

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