

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2006～2009

課題番号：18205020

研究課題名（和文）細胞複雑系での適用をめざしたタンパク質有機化学の新手法開発

研究課題名（英文）Development of New Methods for Protein Organic Chemistry  
Applicable under Miscellaneous Conditions Like Live Cell

研究代表者

浜地 格 (HAMACHI ITARU)

京都大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：90202259

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：細胞系,有機化学,タンパク質,ラベル化反応,分子認識

## 1. 研究計画の概要

本研究の全体構想は、生体高分子の代表であるタンパク質表面を任意にかつ特異的に認識し、それをデザインしたとおりに価額返還できる有機化学の創製およびそれを基盤的な方法論とした細胞という複雑混合系での有機化学・生命化学の新しい研究領域を開拓することである。

具体的には、認識素子となる人工レセプターの開発、水中穏和な条件で進行する有機反応の探索、それらを組み合わせたタンパク質構造変換反応の創製、さらにそのような有機反応を基盤としたタンパク質の人工機能化、試験管内だけでなく究極の夾雑系の一つである細胞系での精密有機化学を展望した細胞、生態系でも使える化学的手法の創製などからなる。

## 2. 研究の進捗状況

リン酸化されたタンパク質繊維を選択的に認識しイメージングできる蛍光性小分子の開発に成功した。またタンパク質選択的な有機反応開発においては、(1) リガンド連結触媒を用いた DMAP アシル転位反応がタンパク質表面で選択的に進行することを見いだした。さらに (2) 我々のグループがこれまでに提案してきたリガンド指向性ラベル化反応のを発展させたトシル化学を利用した新規なワンステップタンパク質ラベル化手法の開発に成功した。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

期待以上の成果が出てきていると自負し

ている。特に上記、DMAP 型反応およびトシル化学型ラベル化は、いずれもこれまでに例を見ない新規な手法であり、細胞破碎液などの夾雑系だけでなく生きた細胞表層や細胞内でもこれらの有機反応がおこるということを幾つかの例で実証しつつある。

## 4. 今後の研究の推進方策

これまでに見つけた手法においては、ターゲットタンパク質の例を広げて、その一般性を証明したい。またどの程度の夾雑系でどの程度のタンパク質でも反応させられるのかという点も詳細に定量的に解析して、学理を深めたい。

## 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 13 件)

1. Molecular Recognition, Fluorescence Sensing, and Biological Assay of Phosphate Anion Derivatives Using Artificial Zn(II)-Dpa Complexes

T. Sakamoto, A. Ojida, I. Hamachi  
*Chem. Commun., Feature Article*,  
141-152 (2009)

2. Ligand-directed tosyl chemistry for protein labeling in vivo  
S. Tsukiji, M. Miyagawa, Y. Takaoka, T. Tamura, I. Hamachi  
*Nature Chemical Biology*, 5, 341-343 (2009)
3. Target-Specific Chemical Acylation of Lectins by Ligand-Tethered DMAP Catalysts  
Y. Koshi, E. Nakata, M. Miyagawa, S. Tsukiji, T. Ogawa, I. Hamachi  
*J. Am. Chem. Soc.*, 130, 245-251 (2008)
4. Affinity Labeling-Based Introduction of a Reactive Handle for Natural Protein Modification  
H. Wakabayashi, M. Miyagawa, Y. Koshi, Y. Takaoka, S. Tsukiji, I. Hamachi  
*Chem. -An Asian J.*, 3, 1134-1139 (2008)
5. Non-enzymatic Covalent Protein Labeling Using a Reactive Tag  
H. Nonaka, S. Tsukiji, A. Ojida, I. Hamachi  
*J. Am. Chem. Soc.*, 129, 15777-15779 (2007)
6. Oligo-Asp Tag/Zn(II)-Complex Probe as a New Pair for Labeling and Fluorescence Imaging of Proteins,  
A. Ojida, K. Honda, D. Shinmi, S. Kiyonaka, Y. Mori, I. Hamachi  
*J. Am. Chem. Soc.*, 128, 10452-10459 (2006)
7. One-pot and Sequential Organic Chemistry on an Enzyme Surface to Tether a Fluorescent Probe at the Proximity of the Active Site with Restoring Enzyme Activity  
Y. Takaoka, H. Tsutsumi, N. Kasagi, E. Nakata, I. Hamachi  
*J. Am. Chem. Soc.*, 128, 3273-3280 (2006)
8. Effective Disruption of Phosphoprotein-Protein Surface Interaction Using Zn(II) Dipicolylamine-Based Artificial Receptors via Two-Point Interaction  
A. Ojida, M. Inoue, Y. Mito-oka, H. Tsutsumi, K. Sada, I. Hamachi  
*J. Am. Chem. Soc.*, 128, 2052-2058 (2006)  
[学会発表] (計 17 件)
1. New Chemical Methods for Selective Protein Labeling  
I. Hamachi  
BMB2008 (Kobe, Japan), 2008/12/11
2. New Chemical Methods for Protein Labeling  
I. Hamachi  
2008 RIKEN Conference on Chemical Biology (Narita, Japan), 2008/11/12-15
3. Chemistry-based Protein Labeling  
I. Hamachi  
22th Naito Conference (Sapporo, Japan), 2008/9/8-12
4. タンパク質選択的ケミカルラベリングの  
新手法；レクチンを中心に  
浜地 格  
糖質科学フォーラム (品川), 2008/12/3
5. 夾雑系の有機化学：細胞有機化学を目指した  
悪戦苦闘  
浜地 格  
東大化学生命専攻 ChemBio ハイブリッド  
レクチャー (東京大学), 2008/11/08
6. Chemistry-based Protein Labeling  
I. Hamachi  
1st Japan-Swiss Chemical Biology  
Symposium, (Lausanne, Swiss),  
2007/6/24-25
7. Coordination Chemistry-based Protein  
Labeling  
I. Hamachi  
4th Peptide Engineering Meeting,  
(Yokohama, Japan), 2006/11/5-8