UTokyo

PRESS RELEASE

東京大学

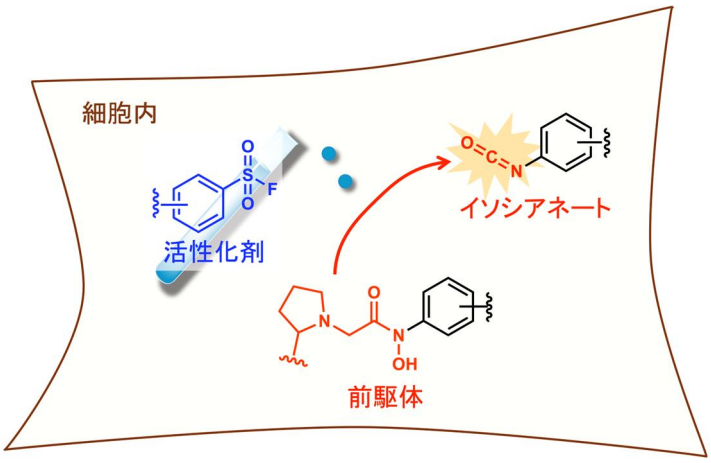
狙ったタイミングで分子を変身させる
――オンデマンドでのイソシアネート生成反応を用いたタンパク質修飾法の開発――

発表のポイント

◆生体分子の化学修飾法であるバイオコンジュゲーションは、生体分子の可視化や医薬品などに用いられる重要な技術です。

◆活性化剤の添加によって、必要なタイミングで高反応性のイソシアネートを生成する新規反応を開発し、細胞内のタンパク質を迅速かつ選択的に修飾することに成功しました。

◆本研究は、生体内でのタンパク質修飾の新たな技術基盤として、今後の医薬品開発、生命現象の解析などへの幅広い応用が期待されます。



オンデマンドでのイソシアネート生成反応を用いたタンパク質修飾法

概要

東京大学 大学院薬学系研究科 山梨 祐輝 助教、Xu Menghan 大学院生、川島 茂裕 准教授、金井 求 教授らの研究グループは、高反応性のイソシアネートをオンデマンドで生成し、タンパク質を選択的に修飾する新技術を開発しました。

生体分子の化学修飾法であるバイオコンジュゲーションは、生体分子の可視化や医薬品などに広く利用されています。理想的なバイオコンジュゲーションには、短時間で反応が進行する高い反応性が求められますが、高反応性を有する化学種は一般に不安定であり、合成・保存中の分解や、生体内での非特異的反応を引き起こすリスクがあります。特にイソシアネートは高い反応性をもつ理想的な化学種であるものの、過剰な反応性のため、バイオコンジュゲーションへの応用例は限られていました。

本研究では、イソシアネートの安定な前駆体を用い、活性化剤の添加によって必要なタイミングでのみイソシアネートを生成する反応を開発しました。これにより、化合物の分解リスクを回避しながら、目的のタイミングで迅速かつ選択的にタンパク質を修飾できました。さらに、この反応を用いることで、生きた細胞内において、標的タンパク質を選択的に修飾できることを示しました。

本成果は、生体内でのタンパク質修飾の新たな技術基盤となるものであり、今後の医薬品開発、生命現象の解析などへの幅広い応用が期待されます。

発表内容

生物の体内では、タンパク質などの様々な分子がお互いに影響を及ぼしあいながら、多様な生命現象を制御しています。これらの分子を化学的に修飾するバイオコンジュゲーション（注1）は、分子の動態解析や機能制御のための重要な技術です（図 1)。細胞内や生物個体内のタンパク質に蛍光タグなどを繋ぐことで、その局在や相互作用を可視化できます。また、標的タンパク質と共有結合を形成することで、より強力にタンパク質の機能を阻害するコバレントドラッグ（注 2）としての応用もなされています。さらに、抗体薬物複合体（ADC）（注 3）などのバイオ医薬品の精密合成にも、バイオコンジュゲーションは重要な役割を果たしています。

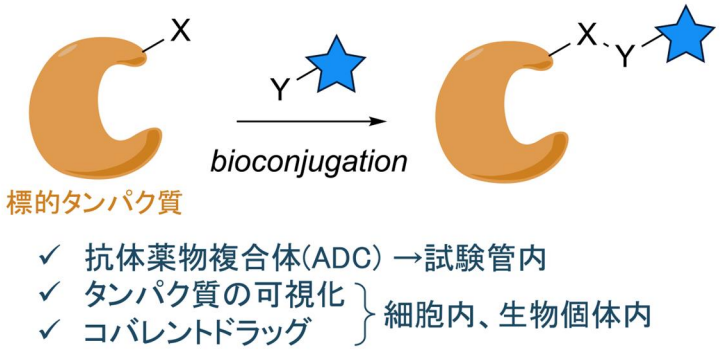


図 1. バイオコンジュゲーションの医薬品・生物学研究への応用

理想的なバイオコンジュゲーションには、短時間で反応が完了する高い反応性が求められます。しかし、反応性が高すぎる化学種は水や細胞内の成分と非特異的に反応してしまい、実用化が難しいという課題がありました。イソシアネート（注 4）は、小さいサイズで高い反応性を示す理想的な化学種の一つです（図 2)。しかし、その高すぎる反応性のために、水溶液中で数十秒のうちに分解するなどの欠点から、バイオコンジュゲーションへの応用はこれまでほとんど実現されていませんでした。

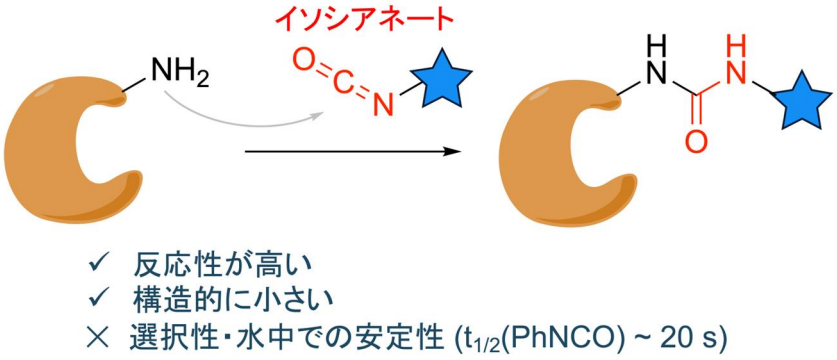


図 2. イソシアネートの特徴

そこで、本研究では、安定なヒドロキサム酸-ピロリジン化合物（イソシアネート前駆体）に対してスルホニルフルオリド（活性化剤）を加えることで、オンデマンドでイソシアネートを生成する新規反応を開発しました（図 3)。

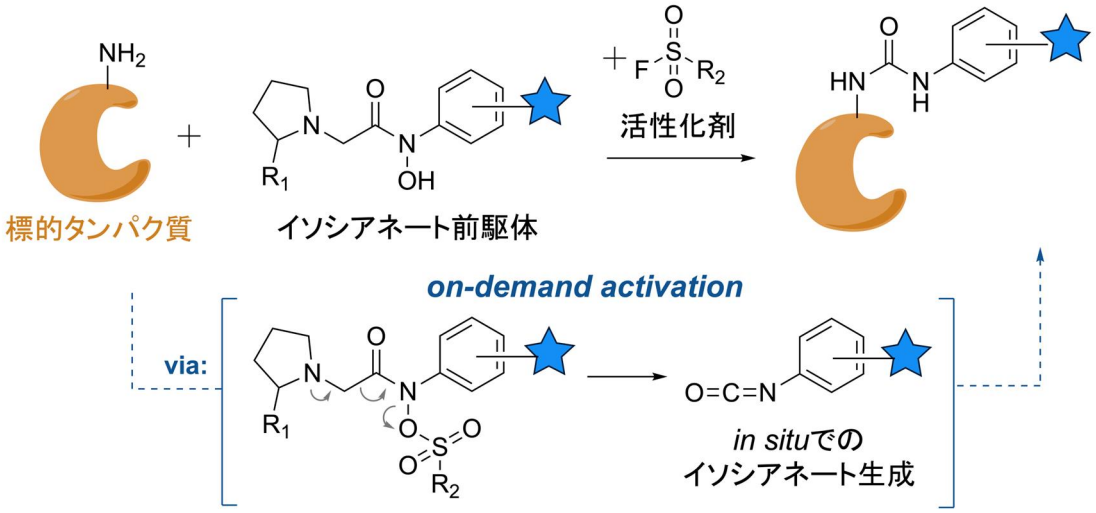


図 3. オンデマンドでイソシアネートを生成する新規反応

さらに、反応を加速するため、ボロン酸とジオールの間の可逆的なボロン酸エステル形成を利用しました。これにより、活性化剤を効率的にイソシアネート前駆体の近くに送達することができるようになり、モデルタンパク質を用いた試験管内の実験で、数分以内に反応が完了する高速なタンパク質修飾を実現しました（図 4）。また、標的タンパク質に結合するリガンド分子を繋いだイソシアネート前駆体を用いることで、試験管内だけでなく、細胞抽出液や生細胞中でも標的タンパク質を選択的に標識できることを示しました。

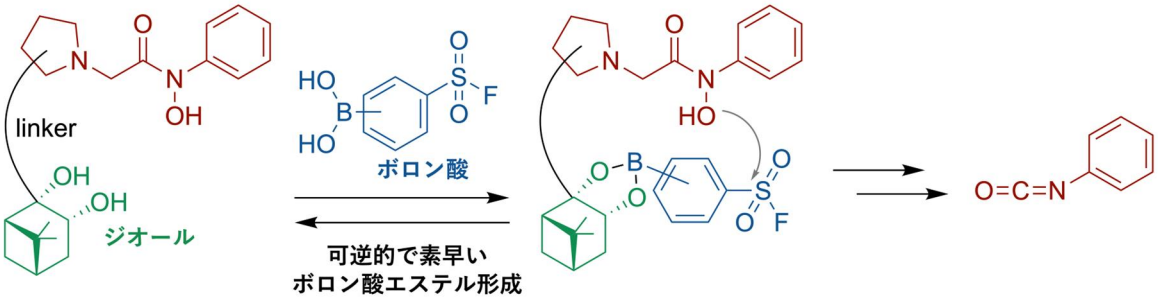


図 4. 可逆的なボロン酸エステル形成を利用した反応効率化

本研究成果は、「高反応性化学種であるイソシアネートの安定な前駆体を用いて、必要なときにのみ活性化する」という新しい化学設計の概念を示した点で、今後のバイオコンジュゲーション法や医薬品開発の基盤技術になると期待されます。

発表者・研究者等情報

東京大学　大学院薬学系研究科
　金井　求　教授
　川島　茂裕　准教授
　山梨　祐輝　助教

論文情報

雑誌名：Journal of the American Chemical Society
題　名：Induced Bioconjugation via On-Demand Isocyanate Formation
著者名：Yuki Yamanashi*, Menghan Xu, Shigehiro A. Kawashima, Motomu Kanai*
DOI： 10.1021/jacs.5c11603
URL： https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jacs.5c11603

研究助成

本研究は、科研費「基盤研究 S（課題番号：23H05466）」、「基盤研究 B（課題番号：21H02074）」、「学術変革研究 A（課題番号：25H02541）」、「挑戦的研究（萌芽）（課題番号：24K22015）」、「JST-ACT-X（課題番号：JPMJAX242K）」の支援により実施されました。

用語解説

（注 1）バイオコンジュゲーション
生体分子（タンパク質、核酸、脂質、糖鎖など）に対して、他の分子を共有結合で繋ぐ手法。一般的に、生体分子の機能を損なわないよう温和な条件で進行することが求められる。

（注 2）コバレントドラッグ
標的タンパク質と共有結合を形成することで、その機能を不可逆的に阻害する薬のこと。

（注 3）抗体薬物複合体（ADC）
抗体に抗がん剤などの低分子の薬物（ペイロード）を繋いだもの。抗体によってペイロードをがん細胞に選択的に送り込むことで、副作用を抑えつつ高い治療効果を得ることが可能になる。

（注 4）イソシアネート
-N=C=O という部分構造を持つ化合物の総称。高い反応性を持ち、アミン・水・アルコールなどの求核性の分子と速やかに反応する。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉
東京大学大学院薬学系研究科
教授　金井　求（かない　もとむ）
Tel：03-5841-4830　E-mail：kanai@mol.f.u-tokyo.ac.jp
助教　山梨　祐輝（やまなし　ゆうき）
Tel：03-5841-8107　E-mail：yamanashi@mol.f.u-tokyo.ac.jp

〈報道に関する問合せ〉
東京大学大学院薬学系研究科　庶務チーム
Tel：03-5841-4702　E-mail：shomu@mol.f.u-tokyo.ac.jp