



SReP Structural Re-Programming

令和 6 年度－10 年度 学術変革領域研究 (A)

**化学構造リプログラミングによる
統合的物質合成科学の創成**

ニュースレター No.4, 2024 年 11 月

■領域メンバーの研究紹介



「機能部位・金属錯体触媒部位の連結による
タンパク質リプログラミング」
北海道大学大学院地球環境科学研究院・教授
A03 小野田 晃
Email akira.onoda@ees.hokudai.ac.jp

1. はじめに

生物は生合成したタンパク質分子をそのまま使うだけでなく、脂質化、グリコシル化、リン酸化など精密な翻訳後修飾を施して、さらに多彩な機能を獲得します。タンパク質の化学修飾法は、リジンの縮合反応などが一般的に利用されますが、特にタンパク質骨格を特異的に変換するための多彩な手法のニーズは現在も高く、次々と新しい手法が報告されています。このような背景のもと、本領域では、タンパク質の化学構造リプログラミング (SReP) の開拓に向けて、特異的な化学修飾によりタンパク質の骨格変換を含む SReP を施して、合成高分子、核酸分子、オリゴ糖、金属錯体などを連結した構造的かつ機能的にもユニークな人工タンパク質の創製を進めています。

2. タンパク質 N 末端修飾による SReP

タンパク質・ペプチドの主鎖 N 末端の α -アミノ基を特異的に化学修飾する手法を幸運にも開発することができました (Fig. 1) ^[1]。主鎖骨格の N 末端はすべてのタンパク質に普遍的に含まれる修飾点である、フォールディング構造に通常含まれないため機能へ影響が小さい、また他の残基特異的な修飾技術と組み合わせて2つ以上の位置特異的な化学修飾へと応用できるなどの利点があります。1*H*-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde (TA4C)を用いた我々の手法は、他の Lys のアミノ基とは反応せず、N 末端 α -アミノ基とのみ反応し、主鎖骨格をイミダゾリジノン環への変換にすることで特異的かつ1ステップで進みます。また、色素など目的の機能部位と TA4C を連結する際に、アミノ基を

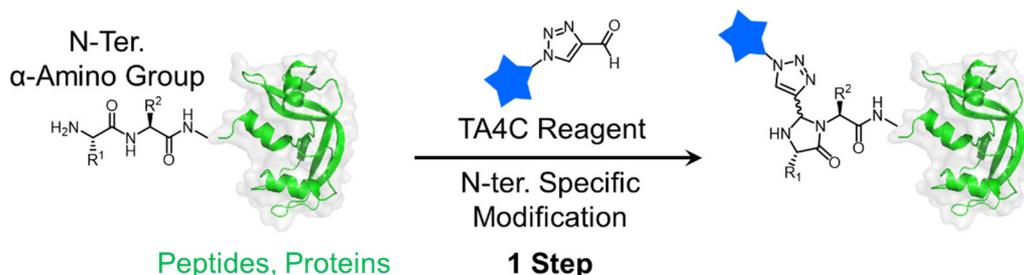


Fig. 1 1*H*-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde (TA4C)を用いたタンパク質およびペプチドの N 末端アミノ基の特異的修飾

足掛かりとして、プリカーサーとなる TA4C を原料に Dimroth 転位により、1 ステップで N 末端修飾試薬に変換することができます (Fig. 2)。これまでに N 末端に蛍光色素、ビオチン、脂質などを連結したタンパク質の調製に成功しており、これらの応用研究を展開しています。脂質コンジュゲートの細胞応用では、岡本教授 (A03 班) との共同研究を開始しました。

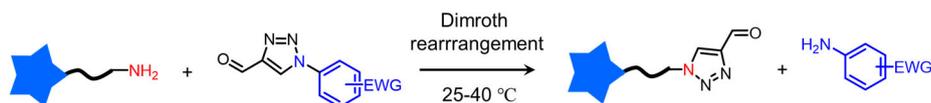


Fig. 2 アミノ基を常温、1 ステップで N 末端修飾試薬 TA4C に変換

3. 人工金属酵素

これまでに合理的な活性点設計が可能で構造的に強固なバレル型タンパク質を利用し、タンパク質の骨格に金属錯体を導入後、第二配位圏、外圏を制御して人工金属酵素の構築に取り組みできました^[2] (Fig. 3)。最近では芳香族 C-H 結合官能基化反応に対して触媒活性を示す Cp*Rh 錯体を位置選択的に連結するために、置換可能な保護配位子を導入し、連結後にこの保護配位子を除去する新たな人工金属酵素を構築しました。蛍光性イソキノリン誘導体の生成物を設計し、触媒活性のハイスループットスクリーニングを確立して上で、ロジウム錯体近傍のタンパク質ドメインの融合さらに進化学による第二配位圏のすべてのアミノ酸を探索して、4000 種類を評価してホットスポットとなる残基を最適化し、芳香族 C-H 結合官能基化を経たイソキノリン合成における触媒活性の大幅向上を達成しています。上記の人工金属酵素構築の研究成果を基盤として、タンパク質や酵素が形成する所望の反応場分子触媒を狙って導入し、従来にない人工金属酵素の創出に取り組んでいます。

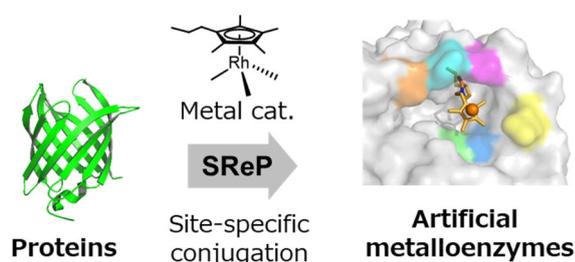


Fig. 3 位置特異的に金属錯体をタンパク質空孔に連結した人工金属酵素

触媒活性を示す Cp*Rh 錯体を位置選択的に連結するために、置換可能な保護配位子を導入し、連結後にこの保護配位子を除去する新たな人工金属酵素を構築しました。蛍光性イソキノリン誘導体の生成物を設計し、触媒活性のハイスループットスクリーニングを確立して上で、ロジウム錯体近傍のタンパク質ドメインの融合さらに進化学による第二配位圏のすべてのアミノ酸を探索して、4000 種類を評価してホットスポットとなる残基を最適化し、芳香族 C-H 結合官能基化を経たイソキノリン合成における触媒活性の大幅向上を達成しています。上記の人工金属酵素構築の研究成果を基盤として、タンパク質や酵素が形成する所望の反応場分子触媒を狙って導入し、従来にない人工金属酵素の創出に取り組んでいます。

4. 参考文献

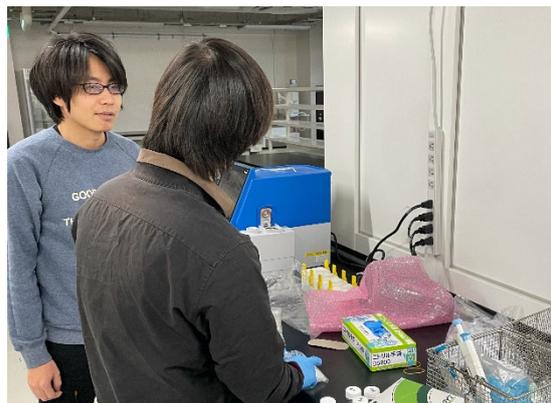
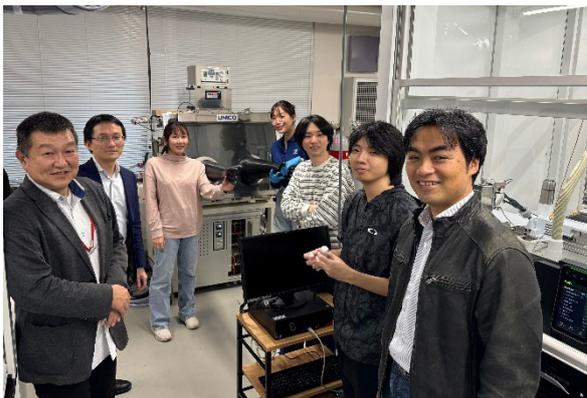
[1] Onoda, A.; Inoue, N.; Sumiyoshi, E.; Hayashi, T. *ChemBioChem* **2020**, *21*, 1274-1278.

[2] (a) Kato, S.; Onoda, A.; Grimm, A. R.; Tachikawa, K.; Schwaneberg, U.; Hayashi, T. *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 14457-14463. (b) Kato, S.; Onoda, A.; Grimm, A. R.; Schwaneberg, U.; Hayashi, T. *J. Inorg. Biochem.* **2021**, *216*, 111352. (c) Kato, S.; Onoda, A.; Taniguchi, N.; Schwaneberg, U.; Hayashi, T. *ChemBioChem* **2021**, *22*, 679-685. (d) Kato, S.; Onoda, A.; Schwaneberg, U.; Hayashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 8285-8290.

■領域ニュース

領域のイベント

・ SReP ミックスラボ (SML、共同研究拠点@東大工学部 5号館) における共同研究が本格的にスタートしました。SML にて、A02 班山口グループ (5名) と A04 班山添グループ (7名) が合同で金属酸化物クラスターの合成、単結晶作成、構造解析等を行っています。



受賞

・ 依光 (A01) が Hong Kong Baptist University の Distinguished Professor of Science に就任しました。

<https://chem.hkbu.edu.hk/people/faculty>



・ 依光 (A01) が SUSTECH Chemical Sciences Lectureship を受賞しました。



・第 57 回酸化反応討論会において、山口 (A02) グループの関根堅志郎 (M2) がポスター賞 (優秀賞) を、田中希実 (M2) と酒井春海 (M1) がポスター賞 (奨励賞) を受賞しました。



受賞業績名：担持 Au-Pd ナノ粒子触媒を用いた環状アミンの選択的脱水素芳香環形成 (関根)；ニトロキシラジカルとの協奏酸化に有効な固定化 Cu 錯体触媒の開発 (田中)；担持 Au ナノ粒子触媒による第三級アミンの位置特異的酸化を利用したエナミノンの選択的合成 (酒井)

<https://sites.google.com/tottori-u.ac.jp/sanka57>

アウトリーチ報告

・依光が 2024 年 11 月 15 日 (金曜日) に Hong Kong Baptist University にて学部学生を対象 (参加者：30 名) にアウトリーチ活動を行い、原子の組み替え反応の重要性と領域の活動について解説しました。

https://chem.hkbu.edu.hk/news/single_news/143



・依光 (A01) の化学構造リプログラミングに関連する記事が、月刊「化学」11月号「我が研究の源流」に掲載されました。

・小野田 (A03) が 2024 年 9 月 25 日 (水) に北海道大学大学院地球環境科学研究院にて札幌光星中学校の学生を対象 (参加者: 中学生 68 名、引率教員 5 名) にアウトリーチ活動を行い、研究室見学、及び、SReP 領域の研究紹介を行いました。



・小野田 (A03) が 2024 年 11 月 25 日 (水) に北海道大学大学院地球環境科学研究院にて旭川高等工業専門学校の学生を対象 (参加者 18 名) にアウトリーチ活動を行い、研究室見学、及び、SReP 領域の研究紹介を行いました。