

# Newsletter



日本化学会  
生体機能関連化学部会

## 巻頭言

研究者は何者か	後藤 佑樹	3
---------	-------	---

## Award Accounts

### 部会講演賞

作物収量を向上させる有機ホウ素化合物の同定とその作用機構解析	草野 修平	5
多価不飽和脂肪酸固相合成を利用した FFAR1 アゴニスト活性に基づく抗炎症性脂肪酸の開発	齋藤 雄太郎	10
酸素挿入型分子ナノカーボンの昆虫内合成	宇佐見 享嗣	16

## Award Accounts

### ポスター賞

$\beta$ -ガラクトシダーゼ応答性環状アンチセンス核酸による RNA 切断制御：トポロジー拘束型スイッチオフと酵素応答型スイッチオン	宮地 健人	21
生理条件下で除去可能なセレノシステイン保護基の開発と機能評価	吉富 文香	23
配位ケモジェネティクスによるアデノシン受容体の活性制御及びオーファン受容体への適用拡大	井上 始	25
LC-Raman スクリーニングによる新規天然硫黄化合物探索法の開発	京谷 拓磨	27
ロバストな反応に基づく多価不飽和脂肪酸の自動固相合成	Shi Yaohong	29
非天然ラジカル的アシル化反応を触媒する ThDP/FAD 依存性酵素探索	藤沢 修斗	31

IR700 類縁体 SiPc-1 の開発とヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-1) 感染細胞選択的な傷害技術への応用

布施 慶和 33

リガンド指向性 ArNASA 化学による in vivo PSMA ラベリング

杉原 大 35

ホウ素中性子捕捉療法のための CPP 搭載ホウ素 DDS 複合体

多田 貴資 37

ぶらり研究室の旅

大阪公立大学 大学院理学研究科 生物化学専攻 生命化学研究室

ペプチド化学による細胞機能制御技術の開発

中瀬 生彦 39

部会行事

第 19 回バイオ関連化学シンポジウム開催報告

ー第 40 回生体機能関連化学シンポジウム・第 28 回バイオテクノロジー部会シンポジウムー

沼田 圭司・跡見 晴幸 41

第 19 回バイオ関連化学シンポジウム講演賞・ポスター賞講評

村上 裕 43

お知らせ

第 20 回バイオ関連化学シンポジウム 会告

ー第 41 回生体機能関連化学シンポジウム・第 29 回バイオテクノロジー部会シンポジウムー

45



## 巻 頭 言

## 研究者は何者か

京都大学 大学院理学研究科

後藤 佑樹



学生のころ、塾講師のバイトをしていた。その研修で「五者の理」という言葉を聞いた。「教師たるもの五者たれ」。つまり、深い知をもつ**学者**、生徒の心に寄り添う**医者**、場の空気や理解度を読む**易者**、魅せて伝える**役者**、雰囲気や和ませ楽しませる**芸者**、の五つの顔をあわせ持ちなさい、という教師としての心構えとのこと。当時の僕は、そんなスーパーマンになれるかよ、と思いながら、なんとか講義をこなしていただけた。

大学教員になった今では、この言葉を折に触れて思い出す。当然、大学教員は教師のはしくれであり、「教師としての五者の理」が求められるだろう。ただ、アカデミアの研究者としては、少し別の観点からの五者の理もある様に思える。僕なりの「研究者版・五者」を解釈するなら、

学者：これは当然。独自かつ最新の学理を追いかけて、人類の知を少しでも広げていかないと行けない。

医者：スタッフや学生の（心身はもちろんのこと）「研究の健康状態」を見立て、適切な手当てで軌道修正してあげる。ときには、行き詰まったテーマを看取り、成仏させることも必要。

易者：研究の潮流や技術の変化を読み取り、未来を占う。自分や学生のキャリアの将来像を描くのも、一種の占いだ。

役者：自分を少しだけ盛ってみせることもある。学生の前では、怒るフリや怒っていないフリ、場合によってはオーバーな対応でエンカレッジすることも、ときには必要かもしれない。

芸者：学会で、学内で、研究室で、場を温かく盛り上げ、人を動かす気配りをしないと。ほら、飲み会で飛び出す“ちょっとした一言”もその一部。

……と、ここまで書いていて気づく。この職業、もっと色々やらなあかんやん。

きちんと論文を書いて発表するのは当たり前として、ときにはこうして巻頭言も書かねばならない。まさに「**筆者**」か。また、トークがうまくないと講義で学生は寝るし、ヒアリングで予算を頂くのも難しい。これは「**弁者**」か。今の時代、大なり小なり経営スキルも必要。ベンチャーを立ち上

げることもあるし、そもそも毎年の予算・人員・プロジェクトを束ねて回さないといけない。さしずめ「**営者**」とでも言うべきか。ロジスティクスも重要。試薬の在庫、安全管理、組換え生物や放射線の管理、ときには学会運営や大学運営も。「**管者**」とでも呼ぶべき役割がたくさん。さらに、人様の評価もしないといけない。自分のことを棚に上げて、論文審査、グラント審査、人事審査を行う「**評者**」の顔。ほかにもまだまだ挙げればきりがない。こうして考えてみると、五者どころではない。六者、七者……。どうやら大学教員は、超スーパーマンでないといけないらしい！？

しかし、こんな巻頭言をわざわざ読んでくれている、奇様な学生さん、若手研究者のみなさん。心配いらないです。全部を完璧にできる必要はない。というか、僕はまったくできていない。そして、みなさんの周りのセンセイも、学会で名を馳せるあの大センセイたちも、五者も七者も十者も完璧にこなせている人は、僕の知る限りひとりもない。

いくつかをそこそこに務めればよい。あるいは、一つだけ突出した「一者」にでもなれば、それだけで、この業界では不思議とどうにかなるらしい。さらに、やってくうちに自分の型ができてくる。自分なりに工夫すれば、苦手だった役割もそのうち板についてくる。ただ、学生からすると、どんな“センセイ”でもセンセイである。だからこそ、お山の大将にならないように、裸の王様にならないように、そこだけは気をつけないといけないのだけど。

僕自身、まだまだ自分が何者なのか分かっていない。けど、いろいろとやっていれば、それなりの三者か四者くらいにはなれるかもしれない。もしかしたら、退官するくらいには、いっばしの五者になれるかもしれない。そう思いながら、今日も目の前の、論文原稿、申請書、学生とのディスカッション、その他もろもろに、自分なりのスタイルで向き合う。

もう 15 年ほどやってますが、これが意外と飽きないし楽しいんですよね。

## Award Accounts

## 第19回バイオ関連化学シンポジウム部会講演賞

## 作物収量を向上させる有機ホウ素化合物の同定とその作用機構解析

理化学研究所 環境資源科学研究センター

草野 修平



**著者紹介：**1986年福島県郡山市生まれ。2009年東北大学理学部化学学科卒業，2011年東北大学理学研究科化学専攻修士課程修了，2014年同博士後期課程修了。2014年～2015年Yale大学化学学科 博士研究員，2015年～2018年福岡大学理学部化学学科助教，現在に至る。卒研生として森田昇 教授，伊藤繁和 助教（現：東京科学大学 准教授）の指導のもと典型元素化学を学ぶ。修士課程～博士課程では永次史 教授，萩原伸也 助教（現上司）の指導のもと，オリゴヌクレオチドを用いた遺伝子発現制御法の開発を行う。博士研究員時代は，Scott Miller 教授の指導のもとペプチド触媒を用いた不斉反応開発に従事する。福岡大学では，助教として駆け出しながらも自身の裁量をもって研究する機会を頂き，本研究の技術基盤となる有機ホウ素化合物の研究を開始させる。研究室主宰者の林田修 教授には感謝している。そして2018年，萩原さんからラボの立ち上げメンバーとして声をかけて頂いて理研へ入所，植物ケミカルバイオロジー研究をスタートさせる。自身の専門性と植物科学をうまく融合できないかと模索し続ける。悪戦苦闘の末，今回の受賞テーマも含め，面白いテーマたちが芽吹きつつある。バイオ関連化学シンポジウムでの発表を乞うご期待！

## 1. はじめに

世界人口の急増や世界経済の発展に伴って，食糧需要は増加の一途を辿る。耕作地の新規拡大が望めない中で世界の食糧需要を満たしていくためには，単位面積あたりの増収化が不可欠である。この世界的課題に対して，これまで世界中の研究者が作物収量を規定する光合成の強化に取り組んできた。しかし，光合成活性を向上させても，植物内の代謝バランスが崩れてしまい増収化に繋がらないなど，作物の増収化は一筋縄ではいかない。収量制御に関わる未利用遺伝資源の新規探索も進められているものの，多層的に制御された植物生長機構がその探索を難航させている。こうした背景から，従来の遺伝学的アプローチに加えて，新たな視点・技術を持って作物増収化に取り組む必要性があるのではと考え，化合物からアプローチする本研究を着想するに至った。具体的には，光合成効率を格段に向上させる化合物を起点に，その作用機構から光合成強化・増収化の指針となり得る有用遺伝資源を同定する狙いである（図1A）。従来の遺伝学的アプローチでは取りこぼされていた有用遺伝資源を，化合物を用いた化学遺伝学的アプローチによって拾えるのではないかと考えた<sup>[1]</sup>。

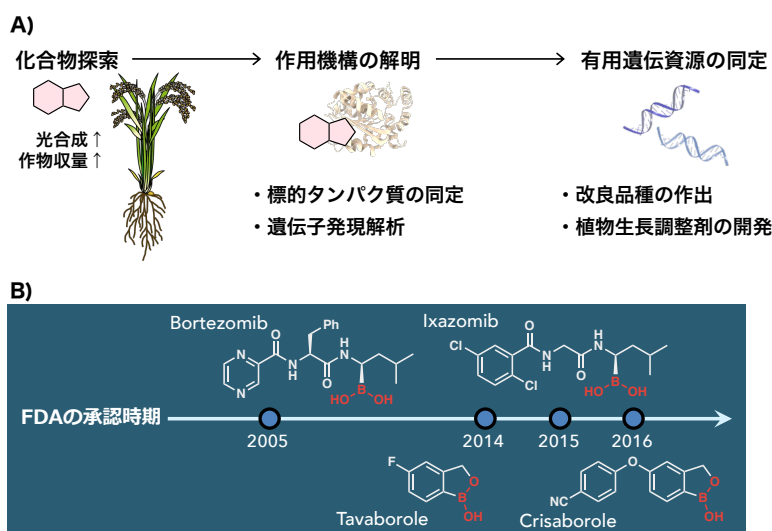


図1. A) 本研究の概略：化学遺伝学的アプローチ，B) 化合物の選択：有機ホウ素化合物

化学遺伝学研究の方向性や特色を決定づけるのが化合物の選択である。本研究において私が着目したのは有機ホウ素化合物である(図 1B)。ボルテズミブに代表されるように有機ホウ素化合物は、ホウ素原子に特徴的な軌道相互作用によって優れた生物活性を示す。創薬分野においては魅力的な化合物群として、低分子医薬の一つのカテゴリーを形成しつつある。その一方で、植物科学においては、有機ホウ素化合物が生物活性分子として積極的に利用されてきた例はない。有機ホウ素化合物を起点とする化学遺伝学研究によって、作物増収化に関わる未利用遺伝資源を同定できるのではないかと期待して研究をスタートさせた。本稿では、イネの増収効果をもたらす有機ホウ素化合物の発見経緯とその作用機構解析について、現在までに明らかになっている最新の成果を紹介する。

## 2. 増収効果をもたらす有機ホウ素化合物 SK818 の同定と作用機標的探索

私個人が整備を進める有機ホウ素化合物ライブラリーを用いて、イネに対して増収効果をもたらす化合物の探索を進めた。水耕液中に化合物(終濃度 100  $\mu\text{M}$ )を添加して、イネの表現型を見る作業を繰り返した。その中で、短期的には根の生長促進を促し、長期的にはイネの光合成活性を約 30%向上させ、さらには収量(籾数)も約 40%向上させる有機ホウ素化合物 SK818 を同定することに成功した(図 2A-C)<sup>[2]</sup>。また、SK818 の特筆すべきは、イネの他にダイズやカブなど他の植物種にも同様の効果をもたらす点である。

顕著な作物増収効果をもたらす化合物 SK818 を取得することができたので、続いてその作用機構解明に着手した。まず植物内における SK818 の作用点となる標的タンパク質候補の同定を進めた。標的的同定法として一般的なアフィニティ法を採用した。すなわち、SK818 をビーズ上に固定化したプローブを作成し、イネ抽出物の中から本ビーズ上に結合するタンパク質を分離し、質量分析によって同定するという方法である(図 3A)。SK818 とビーズを繋ぐリンカーの導入位置はあらかじめ実施した構造活性相関解析によって決定した。ビーズにはアガロースレジンを選定した。播種後 10 日目のイネ(日本晴)からタンパク質を抽出し、本プロー

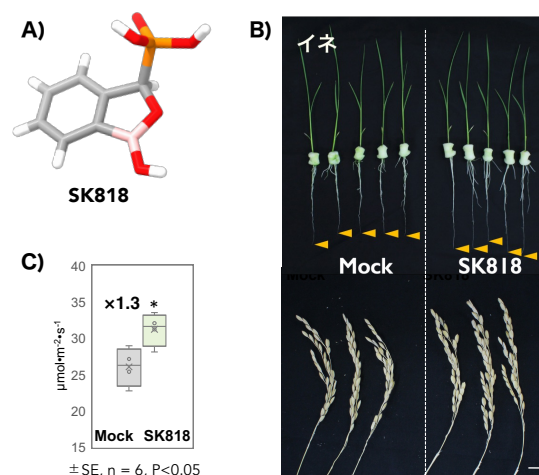


図 2. A) ヒット化合物 SK818, B) SK818 処理/未処理イネの表現型, C) 光合成活性値

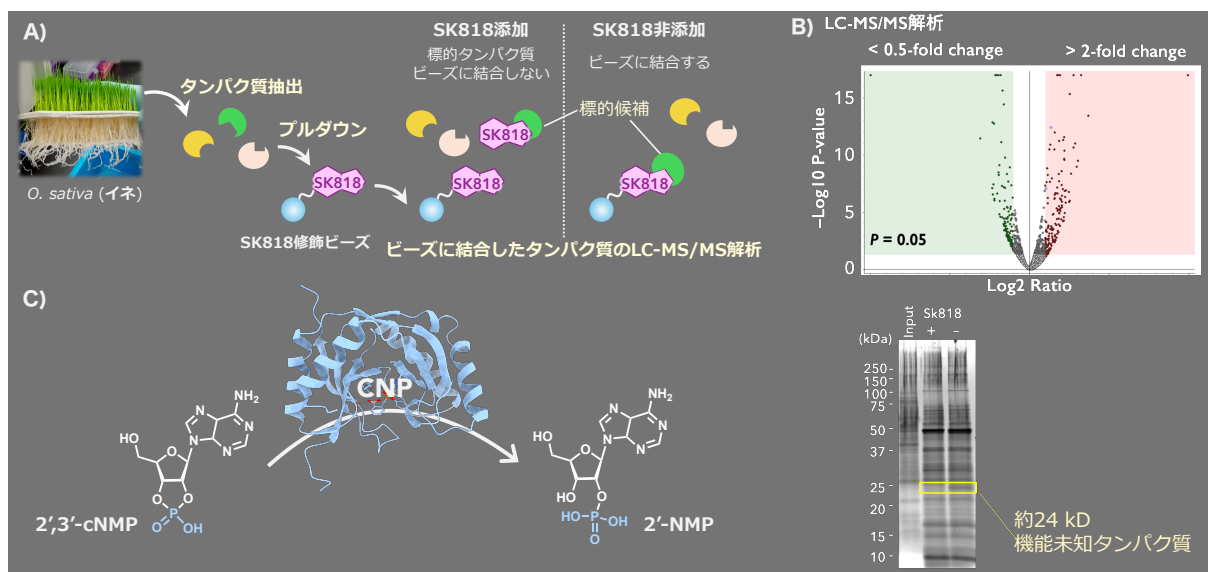


図 3. A) 標的的同定実験の概略, B) LC-MS/MS の解析結果 (Volcano plot), C) 標的候補 CNP

ブに結合するタンパク質の on-bead トリプシン消化した後、得られたペプチド断片を液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析(LC-MS/MS)によって解析した(図 3B)．その結果、有力な標的候補として分子サイズ約 24 kD の機能未知タンパク質を同定した．配列相同性の解析結果から、このタンパク質は 2',3'-環状リン酸ヌクレオチドを加水分解する 2',3'-cyclic nucleotide-3'-phosphodiesterase (CNP)であることを突き止めた(図 3C)．CNP は植物に広く保存されており、酵素としての機能解析はシロイヌナズナおよびコムギ由来 CNP において進められてきたものの<sup>3,4)</sup>、その生物学的な役割は全く解明されていない．SK818 の標的候補として挙がってきた CNP がイネの生長制御に関わる未知因子であるのか否か、その可能性を探る価値は十分にあると考え、以降 CNP を軸に SK818 の作用機構を紐解いていくこととした．

### 3. *In vitro* における OsCNP の機能解析と SK818 の作用効果

先述のように、イネ CNP はその酵素機能すら検証されておらず、まさに手付かずの状況であった．そこでまず、*in vitro* での酵素活性試験から進めることとした．本実験に必要なリコンビナントタンパク質は、大腸菌を宿主として発現させ、大量かつ高純度で得ることができた．この精製タンパク質を用いて酵素活性試験を実施した．反応解析は HPLC を用いて行った．図 4A に示すように、2',3'-cAMP を基質とした場合、イネ CNP は 3'-水酸基側を加水分解して 2'-AMP を選択的に与えた．その一方で、2',3'-cAMP の構造異性体である 3',5'-cAMP に対しては全く加水分解活性を示さなかった．以上の結果から、他の植物種で報告されているように、イネ CNP も 2',3'-cNMP の 3'-水酸基側を特異的に加水分解する phosphodiesterase であることを確認した．続いて、イネ CNP に対する SK818 の作用効果を検討した．SK818 の存在下/非存在化において酵素活性評価試験を実施したところ、SK818 の濃度依存的な生成物のピーク強度の減少と、原料由来(2',3'-cAMP)のピーク強度の増加を確認した(図 4A)．すなわち、SK818 はイネ CNP の阻害剤であることを明らかにした．また、別途実施した蛍光偏光法に基づく相互作用解析の結果から、イネ CNP に対する SK818 の結合解離定数は 240 nM と算出された．

CNP に対する SK818 の結合様式を詳細に理解するべく、SK818 とイネ CNP 複合体の X 線結晶構造解析を進めた．その結果、1.4 Å という分解能で複合体の構造決定に成功した(図 4B)．CNP の活性サイト内には SK818 に相当する明瞭な電子密度が確認され、SK818 は CNP の基質結合部位を物理的に占有する競合阻害剤である可能性が示唆された．また詳細な結合様式の解析結果から、SK818 は活性サイト内のアミノ酸残基との多点相互作用を駆動力として強固に結合することを明らかにした．

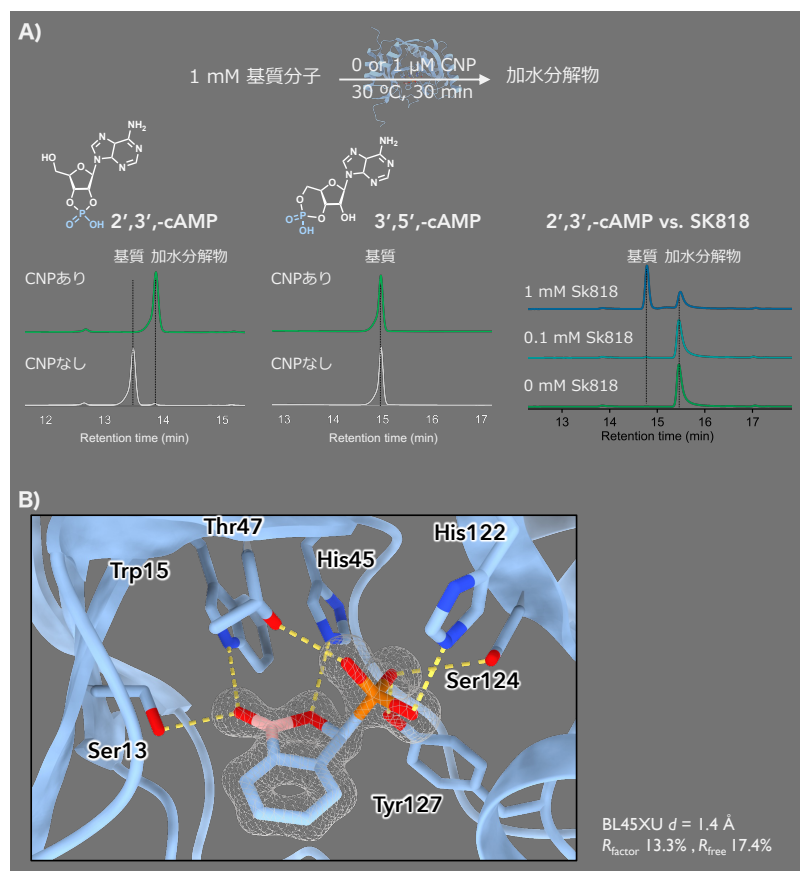


図 4. A) 酵素活性試験, B) SK818-CNP の共結晶構造



#### 4. *In vivo* における SK818 の作用機構解析

*in vivo* においても SK818 は CNP を阻害し得るのか検証するべく、CNP の内在基質である 2',3'-cAMP および 2',3'-cGMP の定量実験を実施した。すなわち、SK818 が CNP の阻害剤としてイネ内で機能するのであれば、イネ内在の 2',3'-cNMPs の量が増加すると考えた。基質定量は LC-MS/MS によって行った。図 5 に示すように、SK818 処理したイネでは未処理条件のイネと比較して、2',3'-cAMP および 2',3'-cGMP の量が約 1.4 倍増加することを見出した。一方、CNP の基質ではない 3',5'-cAMP および 5'-AMP の量に変動は認められなかった。これらの結果は、SK818 がイネ内においても CNP を阻害していることを強く支持する。

以上、*in vitro* および *in vivo* での解析結果から、SK818 による CNP の阻害によって内在性基質 2',3'-cNMPs が蓄積することが示唆された。仮に、これら分子の量的変動によってイネの生長や光合成効率が制御されているのであれば、2',3'-

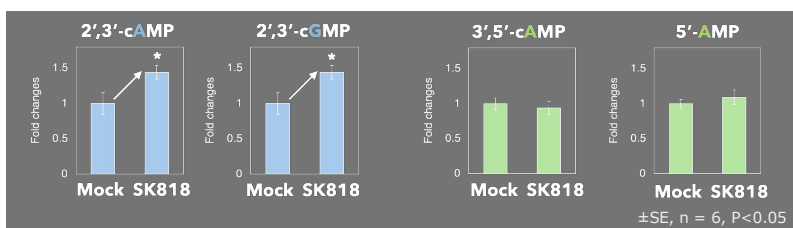


図 5. イネ内在基質量の定量実験

cNMP はシグナル分子として遺伝子発現調節に関与している可能性が高い。事実、他の生物種において 2',3'-cNMP がシグナル分子であるという報告が相次いでいる<sup>[5]</sup>。そこで、イネ内において増加した基質が下流の遺伝子発現に摂動を与えているのでは？という仮説のもと、SK818 および 2',3'-cNMP を処理したイネの遺伝子発現解析を実施した。予備的ではあるものの、SK818 と 8-Br-2',3'-cAMP (2',3'-cAMP の細胞透過性アナログ)処理時に、同じ遺伝子群の発現量が上昇することが確認している。これらの結果は、CNP が SK818 の有力な標的候補であることを強く支持するとともに、2',3'-cNMPs がイネの生長制御に関わる新規植物分子である可能性を示唆する。

#### 5. おわりに

本研究では、化学遺伝学からのアプローチで、イネの光合成強化ならびに増収化に資する有用遺伝資源を同定することを目指した。独自の有機ホウ素化合物ライブラリーの中から、イネの光合成効率と収量を格段に向上させる化合物 SK818 を見出すことに成功した。さらに、SK818 の作用機構解明を通じて、有力な作用標的候補として CNP を同定するとともに、SK818 は CNP の強力な阻害剤であることを明らかにした。加えて、SK818 は *in vivo* においても CNP を阻害すること、さらには CNP の阻害によって生じる 2',3'-cNMPs の蓄積が下流の遺伝子発現に摂動を与えている可能性を見出した。今後さらなる検証・解析は必要であるものの、本研究で得られた結果を踏まえると、CNP およびその内在基質である 2',3'-cNMPs は、イネの生長制御に関わる新規因子(シグナル分子)である可能性が高いと考えている<sup>[5]</sup>。SK818 の作用機構の解像度を上げるべく、現在、ゲノム編集技術を用いた CNP の機能欠損イネの作出や 2',3'-cNMPs 結合タンパク質の同定などの検討を進めている。

#### 謝辞

本研究は、筆者が所属する理化学研究所環境資源科学研究センター分子生命制御研究チームで行われました。萩原伸也チームディレクターならびに本研究を共に進めてくれた四坂勇磨 博士、泉正範 博士、中村咲耶 博士に感謝申し上げます。本研究は、JST 創発的研究支援事業の助成を受けて行われました。最後に、このような研究紹介の機会をくださった日本化学会生体機能関連化学部会・バイオテクノロジー部会幹事の先生方ならびにニュースレター編集委員の先生方に深く御礼申し上げます。

#### 参考文献

[1] Dejonghe, W.; Russinova, E. *Plant Physiol.*, **2017**, *174*, 5–20.

- [2] 草野修平, 四坂勇磨, 萩原伸也, 特願 2025-086676
- [3] Tyc, K.; Kellenberger, C.; Filipowicz, W. *J. Biol. Chem.*, **1987**, 262, 12994–13000.
- [4] Hofmann, A.; Grella, M.; Botos, I.; Hibi, M.; Filipowicz, W.; Wlodawe, A. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 1419–1425.
- [5] Marotta, N. J.; Weinert, E. E. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2023**, 58, 118–131.

## 多価不飽和脂肪酸固相合成を利用した FFAR1 アゴニスト活性に基づく 抗炎症性脂肪酸の開発

東京大学大学院工学系研究科  
齋藤 雄太郎



**著者紹介：**三重県立伊勢高校を卒業後、2009 年に名古屋大学理学部に入学しました。2012 年から 2018 年まで名古屋大学理学部化学科および大学院理学研究科物質理学専攻に所属し、同専攻および名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所の伊丹健一郎先生（現 理化学研究所 開拓研究所 主任研究員・環境資源研究センター チームディレクター）、瀬川泰知先生（現 分子科学研究所 准教授）、村上慧先生（現 関西学院大学 教授）にご指導いただき、難関分子変換を可能にする有機遷移金属触媒に関する研究を行いました。また、在学中に米国・カリフォルニア工科大学の Brian M. Stoltz 教授の下に留学し、天然物全合成に関する研究を経験させていただきました。学生時代は、有機合成化学および有機金属化学を中心に研究を行っていましたが、博士号取得後、培ってきた有機化学の知識・技術を活かしつつ異なる分野に挑戦したいと考え、東京大学工学系研究科化学生命工学専攻の山東信介教授の下で 1 年間ポスドクとして超偏極核磁気共鳴イメージング分子プローブの開発に従事しました。その後、助教として現在に至るまで山東研究室で有機合成化学を武器とするケミカルバイオロジー研究に取り組んでいます。今回の受賞対象となった研究は、助教に着任して 1 年ほど経ってから山東教授より「自分の色の付いた研究をぜひ展開してください」とのお言葉をいただき、前任の野中洋先生（現 京都大学 准教授）から引き継いだ生体分子イメージング研究と並行して進めてきました。山東教授には折に触れて適切なアドバイスを何度もいただきながら、独自の研究を進めさせていただけたことで研究者として多くのことを学ぶことができました。多くの人に支えられながら、自分の色と山東研の色を織り込んだ本研究が栄えある賞をいただけたことを大変光栄に思います。

## 6. はじめに

近年、質量分析を用いたリポミクス研究が盛んに行われ、生体脂質の莫大な分子多様性が明らかになった。これに伴って、従来考えられていたよりもはるかに多くの生命現象や疾患に脂質とその多様性が関連している可能性が示唆されており注目を浴びている。多価不飽和脂肪酸 (Polyunsaturated fatty acid, PUFA) は、複数の不飽和結合をもつ長鎖脂肪酸であり、重要な脂質カテゴリーの一つである。PUFA は、鎖長 (炭素数) や不飽和結合の数・位置によって高い分子多様性を有している。そのため、PUFA の多様な構造に基づく生命機能を明らかにすることは、未解明の生命現象を理解する重要な手がかりとなる。

従来の PUFA 研究はアラキドン酸 (ARA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) など生体内に豊富に存在し、入手容易な分子を中心に研究が行われてきた。一方、多種多様な脂質分子種が次々に発見されている昨今の状況を鑑みると ARA や DHA のような主要な PUFA だけでなく、希少なものと未だ発見・報告されていないものも含めて様々な PUFA の機能を明らかにすることが求められる。しかし、入手容易な PUFA は極めて数が少ない。そのため、多種多様な PUFA を効率的に化学合成できれば、PUFA の分子多様性と多彩な生命機能の解明に大きく貢献できると期待される。

生体分子の化学合成において、歴史的なブレイクスルーの一つに「固相合成法の開発」が挙げられる。現在、固相合成法はペプチドや核酸、糖鎖といった生体分子の汎用的合成法として普及し、これらの分子群はそれぞれ制限はあるものの望みの分子を固相合成法によって手軽に合成・入手できる。このような化学合成基盤が確立していることがペプチド、核酸、糖鎖の生命科学研究や医薬・医療応用を強く後押ししてき



た。一方、PUFA を含む脂質分子群の固相合成法は確立されておらず、実用的な生体脂質の固相合成法は存在していない。本研究開始以前に、固相合成法を一部に取り入れた PUFA の化学合成法が報告されていたが、合成効率の低さや途中から液相合成に切り替える必要がある“部分的”固相合成法であることなど、多種多様な PUFA 分子の効率的合成法という観点では課題を抱えていた<sup>1</sup>。

そこで、本研究では PUFA の“完全”固相合成法を開発した。また、開発した合成法を用いて PUFA ライブラリーを構築し、新しい機能性脂肪酸の探索を行った。特に今回の研究では、遊離脂肪酸受容体 1 (FFAR1/GPR40) に対するアゴニスト活性に基づいて炎症性脂肪酸をライブラリー中から探索し、天然の炎症性脂肪酸代謝物 17,18-EpETE よりも低濃度・低容量で抗炎症効果を発揮する新しい脂肪酸 antieffin を発見した<sup>2,3</sup>。

## 7. PUFA 固相合成法の開発

PUFA 固相合成を達成する上で、克服すべき大きな課題が存在する。それは、核酸、ペプチド、糖鎖はモノマー（アミノ酸、ヌクレオチド、単糖）が連なった生体高分子もしくはオリゴマーであるのに対して、PUFA は高分子ではないことである。加えて、上記 3 つの生体分子群は脱水縮合および加水分解によって形成・切断が可能な結合（アミド結合、リン酸ジエステル結合、グリコシド結合）によってモノマーが連結されているが、PUFA は一般に形成・切断が困難とされる炭素-炭素結合によって構成されている（図 1）。この有機化学的な課題を克服することが本合成法を確立するための鍵となる。

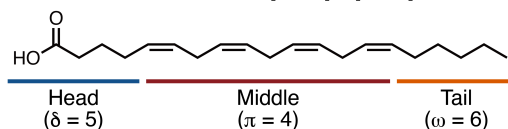
筆者らは、まず PUFA の化学構造を固相合成可能な部分構造に分解して考えることにした。一般的な PUFA は、飽和脂肪酸が不飽和化を受けて生成したモノ不飽和脂肪酸がさらに不飽和化を受けて生合成される。そのため、基本的には脂肪酸鎖の内部に連続した不飽和結合をもつ。言い換えると、カルボン酸から飽和鎖が伸び（Head 部）、続いて Z-オレフィンとメチレン基が交互に連続し（Middle 部）、また飽和炭化水素鎖が出現する（Tail 部）構造をもつ（図 2a）。この 3 つの部分構造を固相担体上で任意に制御することができれば、固相合成によって PUFA の構造を自在に構築できると考えた。より考えやすくするため、それぞれの部分構造について  $\delta$ ,  $\pi$ ,  $\omega$  というパラメーターを導入することにした。Head 部に対応する  $\delta$  は、カルボン酸の 1 位の炭素を含めて、最も近いオレフィン炭素までの炭素数である。Middle 部に対応する  $\pi$  は、Z-オレフィンとメチレン基を 1 ユニット (C3 アリル構造) と捉え、その繰り返しの数で規定する。Tail 部に対応する  $\omega$  は、末端メチル基から最も近いオレフィン炭素までの炭素数である。この 3 つのパラメーターを用いるとそれぞれの PUFA の構造を  $[\delta, \pi, \omega]$  で表現することができる。例えば、ARA は  $[5, 4, 6]$ 、DHA は  $[4, 6, 3]$  と表される。この  $\delta$ ,  $\pi$ ,  $\omega$  を自在にコントロールできれば、PUFA の構造を自在に構築することができる。

この考えに従って、次の合成戦略を立てた（図 2b）。Head 部 ( $\delta$ ) は、対応する入手容易な飽和脂肪酸を固相担体に結合させる（ロードする）ときに

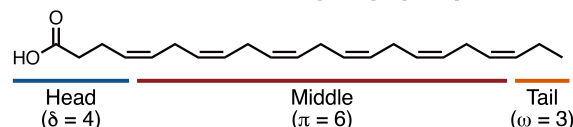
分子群	ペプチド	核酸	糖鎖	脂質 (PUFA を含む)
モノマー	アミノ酸	ヌクレオチド	単糖	なし
結合	アミド結合	リン酸ジエステル結合	グリコシド結合	C-C 結合
	← ポリマー・オリゴマー →			
固相合成	○	○	○	×

図 1. 主要な生体分子群の構造比較と固相合成

### a. (例) アラキドン酸 (ARA) $[\delta, \pi, \omega] = [5, 4, 6]$



### ドコサヘキサエン酸 (DHA) $[\delta, \pi, \omega] = [4, 6, 3]$



### b.

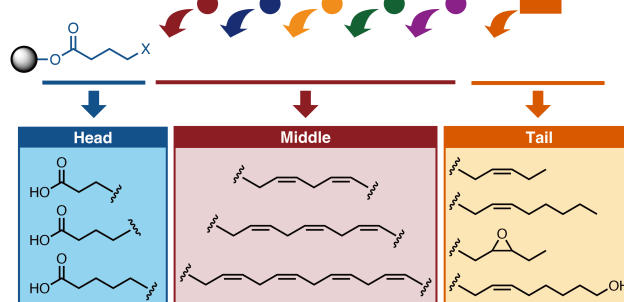
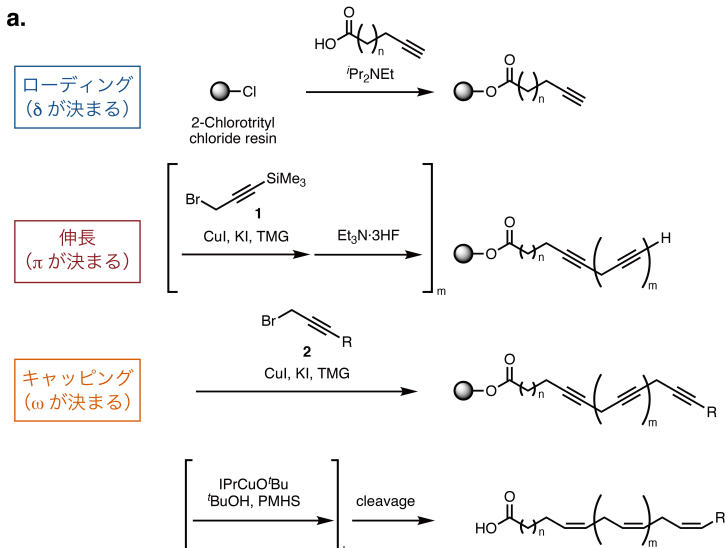


図 2. PUFA 構造と固相合成戦略

決定する。Middle 部 ( $\pi$ ) は、Z-オレフィンとメチレン基のユニット (C3 アリル構造) を連続的に導入できる反応があれば、その繰り返し数によって制御できる。上記の通り、炭素-炭素結合形成は一般的には困難であるがアリル位やそれに類する位置の炭素原子は反応活性が高く、比較的炭素-炭素結合の構築が容易である。Tail 部は、対応する末端構造をもつビルディングブロックを用いれば自在に決められる。

この合成戦略を実現するために、図 3a に示す合成スキームを考案した。なお、本合成スキームは液相合成による PUFA 合成の先行研究<sup>4,5</sup>および部分的固相合成法<sup>1</sup>を参考に考案した。まず、末端アルキンを含むカルボン酸 (エチニルカルボン酸) を固相担体に担持する。このカルボン酸の炭素数によって  $\delta$  が決定する。C5, C6, C7 のエチニルカルボン酸 ( $\delta = 4, 5, 6$  に対応する) は市販されており入手容易である。続いて、トリメチルシリル (TMS) 基で保護されたプロパルギルブロマイド **1** を用いて、銅アセチリドを経由した求核置換反応によって炭素鎖を伸長する。これが C3 アリル構造 (前駆体) の導入になる。続いて、 $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$  を用いて TMS 基を除去すると末端アルキンが生成して上記と同様の条件でさらに炭素鎖を伸長させることができる。これがペプチド固相合成における「保護されたアミノ酸の導入と脱保護を繰り返す分子鎖の伸長」に対応する。この伸長反応を任意の回数繰り返すことで  $\pi$  を決定する。出発原料のエチニルカルボン酸が 1 つのアルキンをもち、後述する末端構造の導入においてもアルキンが 1 つ導入されるため、伸長反応の繰り返し回数を  $m$  とすると、 $\pi = m + 2$  という関係が成り立つ。その後、**1** の代わりに適切なビルディングブロック **2** を用いることで  $\omega$  を決定する。最後に Lalic らが 2013 年に報告した触媒系<sup>6</sup>を用いて、アルキンをアルケンへ半還元し目的の PUFA 構造を構築する。本合成法は、従来の液相合成法に比べて効率的かつ迅速な PUFA 合成を可能にする。従来の液相合成法で PUFA を合成しようとする数日~数週間が必要であるが、本合成法は半日~1 日程度で合成が完了し並列合成も容易である (図 3b)。



**b. 合成にかかる時間スケール**

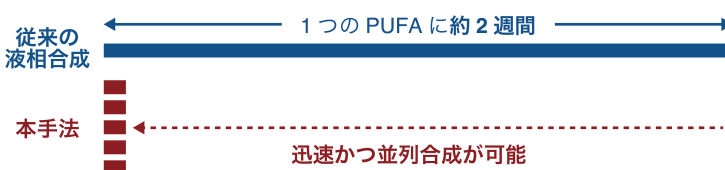


図 3. PUFA 固相合成

## 8. PUFA ライブラリー構築と FFAR1 アゴニスト活性評価

開発した合成法を用いて、 $\delta$ ,  $\pi$ ,  $\omega$  が異なる様々な PUFA のライブラリーを構築し、遊離脂肪酸受容体 1 (FFAR1/GPR40) のアゴニスト活性を評価した<sup>3</sup>。FFAR1 は中長鎖脂肪酸を広く受容するが、多価不飽和脂肪酸やその代謝物に強く活性化されることが知られている<sup>7</sup>。活性化評価には TGF- $\alpha$  切断アッセイ<sup>8</sup>を用いた。その結果、PUFA の微細な構造の違いによって FFAR1 アゴニスト活性は大きく変化することが分かった (図 4)。例えば、今回評価した  $\delta = 4$  の PUFA を比べると、[4,4,3] が最も高いアゴニスト活性を示した。[4,4,3] が FFAR1 アゴニストとなることは先行研究<sup>9</sup>にて示されていたが、構造が類似する他の PUFA と比較して [4,4,3] が FFAR1 を強く活性化することは本研究によって明らかになった。従来は多種類の PUFA を合成して入手することが困難であったため、調査・比較できる PUFA は大きく限定されていた。今回開発した合成法は、このような PUFA 研究のボトルネックを解消し、微細な構造の違いに基づく PUFA 生命機能の調査を可能にする。

## 9. 抗炎症性脂肪酸の探索と antieffin の発見

FFAR1 は多様な疾患の治療標的として注目されている<sup>10-12</sup>。例えば、好中球表面に発現する FFAR1 は、Rac の活性化阻害を介して仮足形成を抑制し、好中球の遊走を制限する<sup>13</sup>。亜麻仁油の主成分である $\alpha$ -リノレン酸はエイコサペンタエン酸 (EPA) へと代謝され、EPA がシトクローム P450 (CYP) によって酸化されることで 17,18-EpETE が産生される。この 17,18-EpETE は FFAR1 活性化を介した好中球遊走阻害によって抗炎症効果を示すことが知られている<sup>13</sup>。しかし、17,18-EpETE は生体内に存在する可溶性エポキシド加水分解酵素 (sEH) によって水を受け、抗炎症効果をもたない 17,18-diHETE へと速やかに変換されてしまう (図 5a)。そのため、17,18-EpETE と同様に FFAR1 に対するアゴニスト活性を有し、生体内で安定なアナログを開発できれば抗炎症剤としての活用が期待できる。

そこで、図 4 で高い FFAR1 アゴニスト活性を示した PUFA [4,4,3] について、好中球の仮足形成阻害能を調査した (図 5b)。先行研究で示された結果と同様に FFAR1 アゴニスト活性の低い EPA は好中球仮足形成阻害を示さず、17,18-EpETE は阻害効果を示した。一方、高い FFAR1 アゴニスト活性をもつ [4,4,3] は予想に反して好中球仮足形成阻害効果を示さなかった。

さらに詳しい知見を得るため、図 4 において高い FFAR1 アゴニスト活性を示した PUFA [5,4,2], [6,3,3], [10,2,3] と、構造が類似しながら比較的低いあるいは中程度のアゴニスト活性を示した [5,5,2], [6,4,3], [10,2,6] について調査を行った (図 5c)。その結果、今回調査したどの PUFA も好中球仮足形成阻害効果を示さなかった。このことは、今回の TGF- $\alpha$ 切断アッセイで評価された FFAR1 アゴニスト活性以外の要因が好中球仮足形成阻害に働いている可能性を示唆している。例えば、調査した PUFA が細胞培養液に添加後に速やかに代謝されてしまい FFAR1 を十分に活性化できなかった可能性が考えられる。また、FFAR1 作動薬として開発された合成アゴニスト TAK-875 が抗炎症効果を示さないという先行研究の結果<sup>13</sup>から、FFAR1 に起因する別のシグナル経路や FFAR1 活性化以外の経路が関わっている可能性も考えられる。

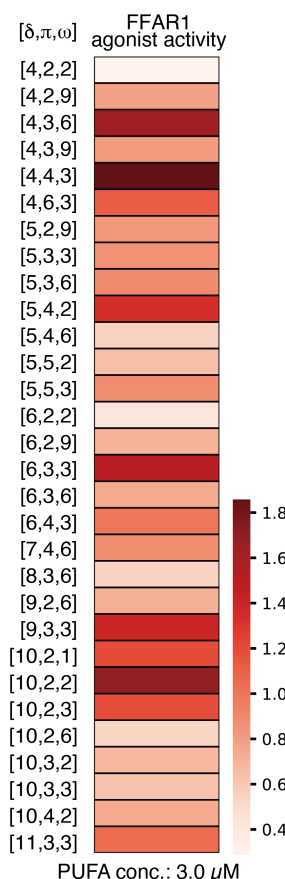


図 4. PUFA ライブラリーを用いた FFAR1 アゴニスト活性評価

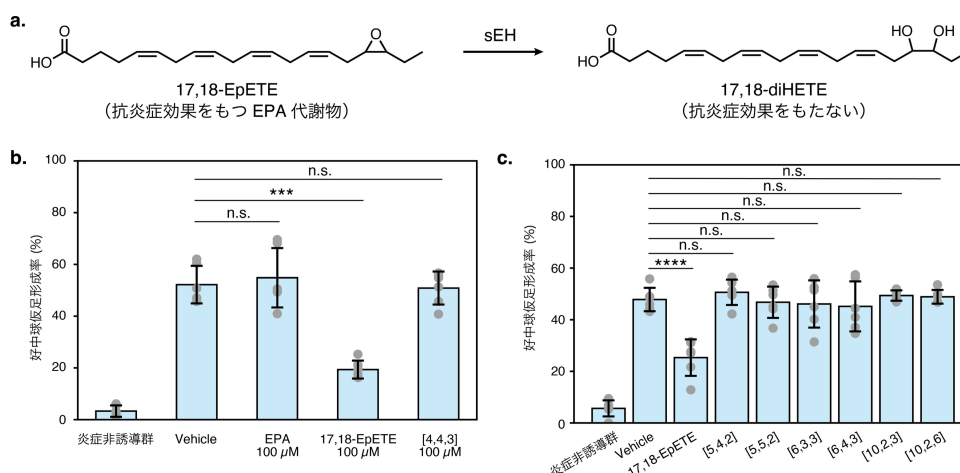


図 5. 好中球仮足形成阻害能をもつ PUFA の探索 (a) 17,18-EpETE から 17,18-diHETE への代謝. (b) 高い FFAR1 アゴニスト活性を示す [4,4,3] の好中球仮足形成阻害能評価. (c) ライブラリーから選定した PUFA (濃度 100  $\mu$ M) の好中球仮足形成阻害能評価. \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ , n.s.: not significant.

続いて、我々は 17,18-EpETE と同様に酸素官能基を有する PUFA に着目した。図 6a に示すように、17,18-EpETE よりもオレフィンが 1 つ少ないエポキシ脂肪酸 **3** では FFAR1 アゴニスト活性が大きく低下した。一方、天然にはあまり見られない構造であるフラン環を有する **4** および **5** では、オレフィン数の少ない **5** の方が高いアゴニスト活性を示した。我々は、新規化合物であった **5** についてさらに調査することにした。

まず、17,18-EpETE を代謝する sEH が多く発現しているマウス肝臓破砕液中での安定性を調べた。その結果、17,18-EpETE の大部分が消費されてしまう条件においても **5** はほぼ完全に残存していた。

続いて、好中球仮足形成阻害能を評価した (図 6b)。17,18-EpETE は阻害効果を示すために 100 nM の濃度を要するのに対し、**5** は 0.1 nM という極めて低い濃度においても阻害効果を示した。さらに、接触皮膚炎モデルマウスを用いた動物実験においても 10 ng/treatment と極めて低い用量で抗炎症効果を示すことが分かった (図 6c)。以上の結果から、ライブラリー中から見出した **5** は、天然の抗炎症性脂肪酸代謝物 17,18-EpETE よりも高い生体安定性と抗炎症効果をもつことが分かった。**5** は新規化合物であったことから、我々は本化合物を **antiefin** (由来は anti-inflammatory (ethylfuranyl)fatty acid と化合物を表す接尾語 in) と命名した。

## 10. おわりに

本研究では、PUFA の完全固相合成法を開発し、高い炎症効果をもつ新しい脂肪酸 **antiefin** を見出した。本研究では抗炎症性脂肪酸に注目して探索を行ったが、開発された PUFA 固相合成法を用いた脂質ケミカルバイオロジー研究は、今まさに始まったところである。今後、より大規模なライブラリー構築・機能性脂肪酸の探索による創薬研究やより広範囲のケミカルバイオロジーへの貢献が期待される。

## 謝辞

本研究は、筆者が所属する東京大学大学院 工学系研究科 山梨研究室で行われました。山梨教授、森本淳平准教授ならびに本研究に多大な貢献をしてくれた学生の秋田真悠子さん、佐野友亮さん、施堯虹さんに感謝申し上げます。また、共同研究者である医薬基盤・健康・栄養研究所 國澤純教授、堀田将志博士、シンガポール科学技術研究庁 雑賀あずさ博士、明治大学 長竹貴大准教授、東京大学 薬学系研究科 青木淳賢教授、上水明治博士に御礼申し上げます。本研究は、JSPS 科学研究費助成事業 若手研究、基盤研究 (B)、豊田理研スカラープログラム、みずほ学術振興財団 工学研究助成、有機合成化学協会コニカミノルタ研究企画賞および JST 戦略的創造研究推進事業 CREST の助成を受けています。最後に、我々の研究の紹介の機会をくださった日本化学会生体機能関連化学部会・バイオテクノロジー部会幹事の先生方、特にニュースレター編集委員の先生方に深く御礼申し上げます。

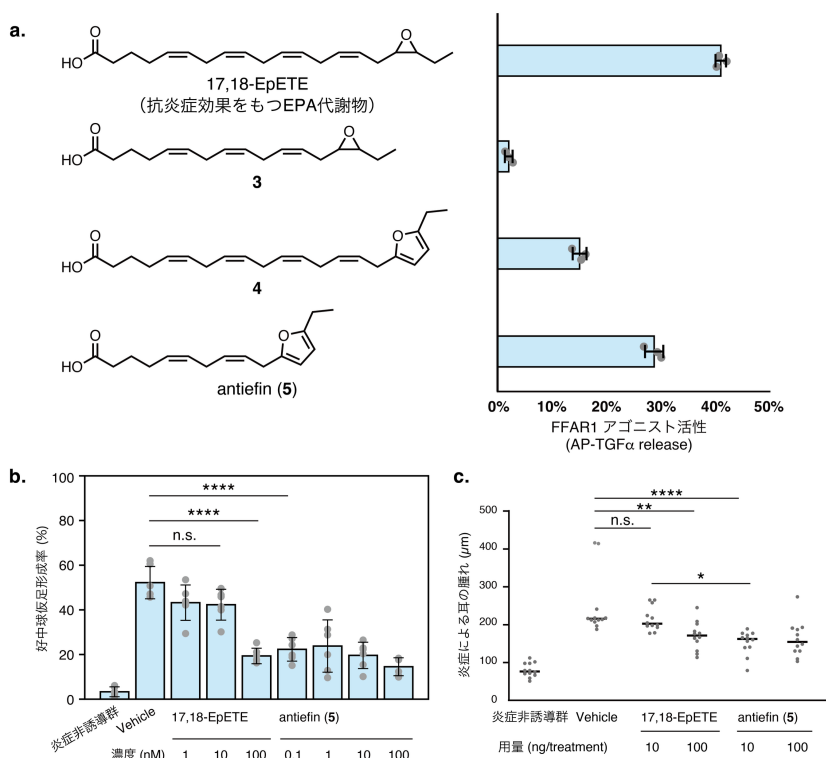


図 6. 抗炎症性脂肪酸 **antiefin** の開発. (a) TGF- $\alpha$ 切断アッセイによる FFAR1 アゴニスト活性評価. (b) 好中球仮足形成阻害実験. (c) 接触皮膚炎モデルマウスを用いた *in vivo* 実験. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ , n.s.: not significant.

参考文献

- [1] L. Qi, M. M. Meijler, S. H. Lee, C. Sun, K. D. Janda, *Org. Lett.* **2004**, 6, 1673.
- [2] Y. Saito, M. Akita, A. Saika, Y. Sano, M. Hotta, J. Morimoto, A. Uwamizu, J. Aoki, T. Nagatake, J. Kunisawa, S. Sando, *Nat. Chem.* **2025**, 17, 1391.
- [3] Y. Shi, Y. Saito, M. Hotta, M. Akita, A. Uwamizu, J. Aoki, J. Kunisawa, S. Sando, *RSC Adv.* **2025**, 15, 32263.
- [4] T. Jeffery, S. Gueugnot, G. Linstrumelle, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5757.
- [5] S. Durand, J. L. Parrain, M. Santelli, *Synthesis* **1998**, 1998, 1015.
- [6] A. M. Whittaker, G. Lalic, *Org. Lett.* **2013**, 15, 1112.
- [7] G. Milligan, B. Shimpukade, T. Ulven, B. D. Hudson, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 67.
- [8] A. Inoue, J. Ishiguro, H. Kitamura, N. Arima, M. Okutani, A. Shuto, S. Higashiyama, T. Ohwada, H. Arai, K. Makide, J. Aoki, *Nat. Methods* **2012**, 9, 1021.
- [9] J. M. Houthuijzen, I. Oosterom, B. D. Hudson, A. Hirasawa, L. G. M. Daenen, C. M. McLean, S. V. F. Hansen, M. T. M. Van Jaarsveld, D. S. Peeper, S. J. Sadatmand, J. M. L. Roodhart, C. H. A. Van De Lest, T. Ulven, K. Ishihara, G. Milligan, E. E. Voest, *FASEB J.* **2017**, 31, 2195.
- [10] M. Z. Khan, L. He, *Neuropharmacology* **2017**, 113, 639.
- [11] I. Kimura, A. Ichimura, R. Ohue-Kitano, M. Igarashi, *Physiol. Rev.* **2020**, 100, 171.
- [12] E. Defossa, M. Wagner, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 2991.
- [13] T. Nagatake, Y. Shiogama, A. Inoue, J. Kikuta, T. Honda, P. Tiwari, T. Kishi, A. Yanagisawa, Y. Isobe, N. Matsumoto, M. Shimojou, S. Morimoto, H. Suzuki, S. ichiro Hirata, P. Steneberg, H. Edlund, J. Aoki, M. Arita, H. Kiyono, Y. Yasutomi, M. Ishii, K. Kabashima, J. Kunisawa, *J. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, 142, 470.



**酸素挿入型分子ナノカーボンの昆虫内合成**

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所  
宇佐見 享嗣



**著者紹介：**愛知県立西春高校を卒業後、2009 年に近畿大学理工学部応用化学科に入学。2012 年の生物工学研究室配属から 2015 年に博士前期課程修了後、ひめか株式会社に勤務。2017 年に名古屋大学大学院工学研究科生命分子専攻に入学し、2020 年の学位取得まで堀克敏先生・石川聖人先生（現 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部 准教授）にご指導いただき、天然由来分子の生体内動態解明やバイオプロセス開発に関する研究を行ってきました。特に在学当時から、生物による異物代謝に注目し、有機化学合成では達成が困難な分子変換に強い興味が惹かれました。また、生体触媒を利用した有用分子生産や代謝経路制御の研究に取り組み、化学的手法と生物学的手法の両立を意識しながら研究を進めました。これらの経験を通じて、化学と生物の境界領域にこそ新しい発見の種があると実感し、特に生物が示す異物代謝様式に深い興味を抱くようになりました。学位取得後から現在に至るまで、名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所の伊丹健一郎先生（現 国立研究開発法人理化学研究所開拓研究所 主任研究員）のもとで有機合成化学と生物機能の融合による新しい分子変換技術の開発に取り組んでおります。特に、昆虫が有する異物代謝機構に着目した「昆虫を“生きた触媒”として活用する分子変換化学」として、従来の化学的手法では制御が難しい分子ナノカーボンの選択的修飾や新奇機能化反応の実現を目指しています。本研究は、化学と生物の境界領域を手探りで切り拓くところから始まりました。これらは試行錯誤の連続ではありましたが、生物が示す異物代謝機構の中に新たな分子変換の可能性を見だし、このたびこのような名誉ある賞を賜り、身に余る光栄です。

**11. はじめに**

近年、 $\pi$  共役炭素骨格をもつ分子ナノカーボン（molecular nanocarbons, MNCs）は、カーボンナノチューブやフラーレン、グラフェンに代表されるナノカーボンの精密構造を有するミニチュアモデルとして注目されている。これら MNCs は、その構造的均一性から電子デバイス・光学材料・触媒などへの応用が進む一方で、化学的官能化が困難であるという大きな課題を抱えている。特に、ナノカーボン骨格に酸素原子を位置選択的に挿入する反応は、従来の化学的手法では高活性酸化剤や高温条件を必要とし、副反応や分解を伴いやすい。一方で、生物は多様な外来化合物に適応してきた進化の歴史の中で、選択的かつ穏和な条件下で化学修飾を行う能力を獲得している。中でも昆虫は、植物二次代謝産物や人工化学物質を識別・分解する高度な異物代謝系を持ち、その中心にシトクロム P450 モノオキシゲナーゼ（CYP）が位置する。昆虫の CYP は、基質柔軟性が高く、電子密度や立体構造を鋭敏に認識して特定の炭素-水素結合を水酸化する能力を示す。本稿ではこの特性に着目し、“昆虫を生きた触媒として活用する分子変換化学”を確立すべく、昆虫の異物代謝系を利用し、化学的に不活性な MNC 骨格に一酸素原子を位置選択的に導入することを目指し、新たな機能性分子を創出する試みと、その分子変換機構について概説する<sup>1)</sup>。

**12. 昆虫が示す異物代謝の特性と分子ナノカーボンの一酸素原子挿入反応**

モデル昆虫には、ハスモンヨトウ（*Spodoptera litura*）幼虫を選択した。本種は世界的に分布する多食性の代表的チョウ目昆虫であり、農作物を含む 100 種以上の植物を摂食することが知られている。そのため、植物が産生するアルカロイド、テルペノイド、フラボノイドなど、構造的に多様な二次代謝産物への耐性と

代謝能を進化的に獲得している。実際にゲノム解析の結果、ハスモンヨトウは 130 種類程度の CYP 遺伝子を有しており、昆虫界の中でも特に外来化合物代謝能が高い種の一つである。この高い化学適応力を背景に、筆者らは本種を“生体触媒 (in vivo biocatalyst)”として利用できると考えた。CYP 酵素群は本来、昆虫にとって有害な化学物質を酸化的に修飾し、水溶性を高めて排出・解毒する役割を担っている。しかし筆者らは、この「異物代謝機構」を逆手に取り、人工分子を新たな異物として認識させ、選択的な酸化反応を誘導するという発想を立てた。つまり、化学的には反応性に乏しいナノカーボン分子に対して、昆虫の生体代謝場を“反応場”として活用する試みである。モデル化合物には、剛直な  $\pi$  共役環状分子 methylene-bridged[6]cycloparaphenylene ([6]MCP) を選択した<sup>2)</sup>。この分子は 6 つのベンゼン環がメチレン架橋を介して連結した高対称ナノベルトであり、強い  $\pi$  電子閉じ込め効果と高い電子密度を有する。

まず、ハスモンヨトウ幼虫が[6]MCP をどの程度の濃度まで摂取可能か確認するため、摂食阻害試験を実施した。段階的に[6]MCP 濃度を変化させた人工飼料を与え、摂食行動および生存率を評価した結果、幼虫は 1 匹あたり最大で 200 nmol の[6]MCP を含む飼料でも顕著な忌避行動や致死の影響を示さず、通常通りの摂食を維持することが確認された。このことは、ハスモンヨトウが  $\pi$  共役系ナノカーボンである[6]MCP を異物として認識しながらも、体内代謝経路を介して一定の耐性を示すことを意味している。この知見を基に、以後の実験では 200 nmol/larva の[6]MCP を用いた。摂食後に得られた排せつ物をジクロロメタンにて抽出し、MALDI-TOF MS により解析したところ、[6]MCP 由来の主要ピークに加え、分子量が 16 増加した新規ピークが検出された。これは明らかに一酸素原子の付加を示唆する結果であり、昆虫が  $\pi$  共役環状分子に対して酸化変換を行う可能性を初めて示すものであった。得られた生成物はサイズ排除クロマトグラフィーおよび分画薄層クロマトグラフィーにより精製し、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C NMR、単結晶 X 線構造解析を用いて構造を解析した結果、[6]MCP の芳香環ではなく 5 員環内のメチレン基の反対側にある C<sub>phenyl</sub>-C<sub>phenyl</sub> 結合に酸素原子が挿入され、新たに C-O-C 結合を形成した[6]MCP-oxylene であることが明らかになった。また、反応スケールを 50 倍に上げて生成物は[6]MCP-oxylene のみの選択性の高い反応であることも明らかになった (図 1)。この反応がハスモンヨトウ幼虫に特有の P450 系酵素群によって媒介されていることは後続の解析で明らかとなったが、ここで重要なのは、昆虫が通常は解毒目的で進化させた代謝経路を、分子ナノカーボンの構造変換という新たな化学反応場として活用できるという点である。すなわち、昆虫の異物代謝は単なる生理現象にとどまらず、 $\pi$  共役ナノ構造体に対しても高選択的な酸素挿入を実現する“生体内ナノリアクター”として機能しうることが示された。



図1. ハスモンヨトウ幼虫による[6]MCPへの一酸素原子挿入反応

### 13. [6]MCP-oxylene 生産に関与する昆虫内酵素の同定

この[6]MCP-oxylene 生産反応が昆虫自身による酵素反応なのか、あるいは腸内細菌叢による生物変換なのかを明確にすることは、反応機構の理解において極めて重要である。まず、培養可能な腸内細菌叢を標的に嫌気条件にて培養後、[6]MCP を投与し生物変換を実施したが、[6]MCP-oxylene 生産は認められなかった。続いて、抗生物質 (アンピシリン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン) を混合した人工飼料をハスモンヨトウ幼虫へ経口投与し、腸内細菌をほぼ除去した「無菌化個体」を作製した。その後、[6]MCP を含む人工飼料を摂食させたところ、[6]MCP-oxylene 生産が確認できた。これら結果は、腸内細菌叢が反応に寄与していないことを示し、[6]MCP-oxylene 生産反応は宿主である昆虫自身の代謝系に起因する反応であることが強く示唆された。この結果を受けて、筆者らは昆虫体内の代謝酵素に焦点

を当て、網羅的な遺伝子発現解析を実施した。具体的には、[6]MCPP を摂食させた幼虫の中腸組織から mRNA を抽出し、RNA-seq 解析を行った。その結果、代謝に関与する遺伝子群が顕著に発現誘導されたことを確認した。また、[6]MCPP へ単一酸素原子挿入にかかる生体内変換経路から CYP ファミリーの中でも、天然物において異物代謝への関与が示唆されている 5 種の CYPs [X1、X2、X3、X4、X5; チトクローム P450B2 様アイソフォーム X1 (RefSeq ID : XP\_022824880)、X2 (XP\_022824881)、X3 (XP\_022824882)、X4 (XP\_022824884)、X5 (XP\_022824885)] に注目した<sup>3)</sup>。そこで、これら CYPs に対し、qRT-PCR を実施した。その結果、少なくとも 3 種の CYPs (CYP X2, X3, X4) が [6]MCPP の昆虫内合成に関与することが示唆された。次いで、RNA 干渉技術<sup>4)</sup>を用いて、これら CYPs を標的とする siRNA をハスモンヨトウ幼虫の血リンパへ注入しノックダウンしたところ、CYP X2 および X3 が有意に発現減少し、[6]MCPP-oxylenes の生産量は半減した (図 2)。したがって、これら CYP X2 および X3 が昆虫内合成における鍵酵素であることを明らかにした。

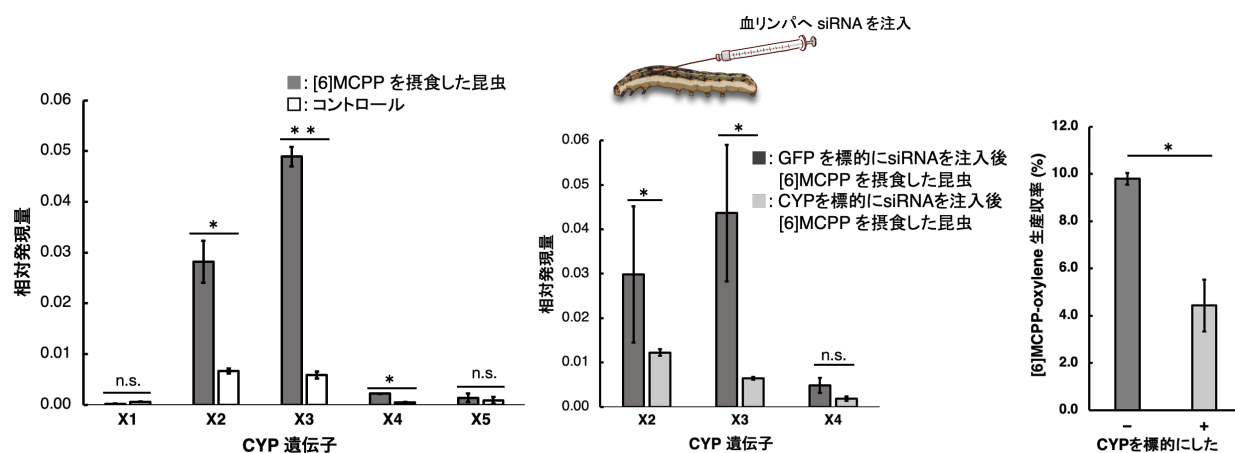


図2. [6]MCPP 分子変換の関与が示唆されたP450 遺伝子の発現量比較

これらの知見をより詳細に検証するため、筆者らは CYP X2 および X3 の遺伝子を大腸菌に異種発現させ、全細胞生物変換を試みた。また、大腸菌発現系では、CYP の触媒活性に不可欠な酸化還元パートナーである NADPH P450 レダクターゼ (CPR) を共発現させた。その結果、CYP X2 および X3 において CPR と共発現 (CYP X2t または CYP X3t) させた場合のみ同等の [6]MCPP-oxylenes 生産量を確認し (図 3)、CYP X2 および CYP X3 が [6]MCPP の生体内変換に関与する主要酵素であることを裏付けた。さらに、反応の一般性を検証するため、筆者らは [n]cycloparaphenylene ([n]CPP,  $n = 5-12$ ) を用いた昆虫内合成を試みた。ハスモンヨトウ幼虫に各 CPP を摂食させた結果、驚くべきことに [6]CPP に対してのみ選択的に酸素挿入反応が進行し、他の環サイズ ([5]CPP, [7-12]CPP) では反応が認められなかった。[6]CPP から得られた生成物は、フェニル-フェニル間の C-C 結合に酸素原子が挿入された [6]CPP-oxylenes であることが明らかとなった。興味深いことに、[6]MCPP の場合と比較して、[6]CPP 摂食時には CYP 発現の挙動がやや異なり、CYP X2 のみが顕著に誘導された。これは、[6]CPP が [6]MCPP よりも構造的柔軟性が高く、CYP への結合安定性に差異が生じるためと考えられる。また、大腸菌異種発現系による [6]CPP の変換試験を行ったところ

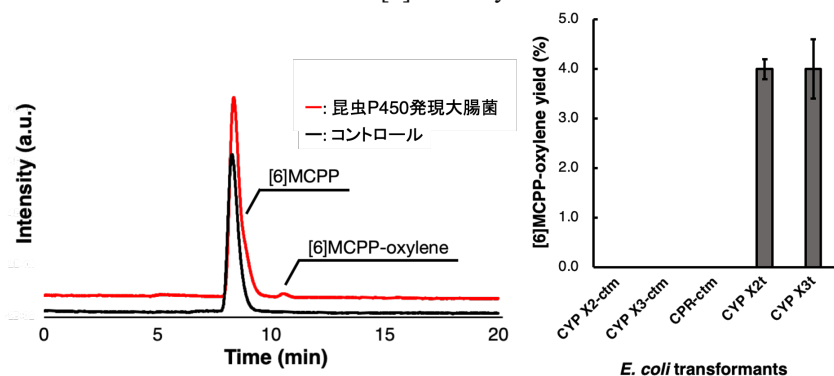


図3. 大腸菌異種発現系による[6]MCPP-oxylenesの生産



ろ、低収率ながらも[6]CPP-oxylene が生成し、CYP X2 が[6]CPP の酸素挿入反応を担う主要酵素であることが支持された。

以上より、ハスモンヨトウが有する P450 酵素群は、[6]MCP のみならず構造的に類似した環状ナノカーボンである[6]CPP にも酸素原子を選択的に導入できることが明らかとなった。この知見は、昆虫体内における芳香環構造の分子選択的酸化反応が、炭素ナノ構造のサイズ認識的変換場として機能していることを示すものである。

#### 14. [6]MCP-oxylene 生産への反応機構の解明

上記で[6]MCP に対する反応への関与を明らかにした CYP X2 および X3 のうち、より発現量が高かった CYP X3 を対象に[6]MCP との結合親和性を 2 段階計算により評価し、[6]MCP が酵素内に包摂される様式と酸素挿入のメカニズムを解明した。第一段階として、[6]MCP が CYP X3 に結合する立体構造を探るため、ドッキングシミュレーションを実施した。CYP X3 の三次元構造は実験的に決定されていないため、AlphaFold2 による予測構造を用いた。第二段階では、得られた[6]MCP-CYPX3 複合体構造に対して分子動力学 (MD) シミュレーションを実施した。その結果、酵素内に 1 分子の[6]MCP が取り込まれ安定構造を示したものの、[6]MCP から CYP の活性部位であるヘムまでの最近接距離が 10.5 Å であり、一般的な CYP 反応における 7 Å 以下よりも遠距離だった。そこで、CYP X3 内の利用可能な構造空間を考慮し、2 分子の[6]MCP での結合を試みたところ、安定的に包摂されるとともに最近接距離は 6.6 Å を示した。これらの結果は、2 分子の[6]MCP が CYP X3 内にて安定的に包摂されていることを裏付けている。また、CYP X2 においても検討し、同様に 2 分子の[6]MCP が内包されることを確認した。これら計算シミュレーションは古典力学に基づくものであり化学反応プロセスを解明するものではないことから、量子化学計算を実施し反応の進み方を詳細に調べた。反応経路にはエポキシ体を経由経路と直接酸素挿入経路が考えられ、それぞれ解析し、得られた活性化自由エネルギーは直接酸素挿入経路が低かった。これらの実験的・計算的検討から、[6]MCP-oxylene は特有の生物学的経路を利用し生産されることが明らかになった。最後に、[6]CPP から[6]CPP-oxylene への反応機構も同様の手法にて調査し、[6]MCP と酷似している結果が得られた。

#### 15. おわりに

本研究では、昆虫が有する異物代謝機構を活用し、分子ナノカーボンに対して極めて高い位置選択的な一酸素原子挿入反応を誘導できることを明らかにした。特に、ハスモンヨトウ幼虫による[6]MCP および[6]CPP の昆虫内合成反応は、腸内細菌叢が関与しない宿主昆虫固有の酵素系によって担われていることが示された。網羅的発現解析と機能抑制実験により、チトクローム P450 ファミリーのうち CYP X2 および CYP X3 がそれぞれ異なる環状分子に対して特異的に作用することが明らかとなった。さらに、計算科学的手法により、基質結合様式および電子状態変化を分子レベルにて可視化し、反応機構の解明に至った。これらの知見は、昆虫 P450 が分子ナノカーボンに対して電子密度や立体的歪みを巧みに識別し、極めて選択的な反応を実現するという新たな生体触媒原理を提示するものである。従来の化学触媒では達成困難であり、常温・常圧の温和な条件で機能するグリーンプロセスとしての意義も大きい。

今後は、CYPs の構造改変や基質スクリーニングを通じて、分子ナノカーボンのみならず多様な人工分子への精密官能化反応への展開が期待される。

#### 謝辞

本研究は、筆者が所属する名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所 (WPI-ITbM) 伊丹グループおよび名古屋大学大学院理学研究科 有機化学研究室で実施されました。国立研究開発法人 理化学研究所 開拓研究所 伊丹健一郎主任研究員 (環境資源科学研究センター チームディレクター、名古屋大学 WPI-ITbM 主任研究者)、八木亜樹子特任准教授、山田早人 特任助教、博士後期課程学生 周戸大季さん (研究

当時)、博士後期課程学生 河野英也さん(研究当時)、博士後期課程学生 加藤智紀さんに感謝申し上げます。また、共同研究者である名古屋大学 WPI-ITbM 柳井毅教授、藤本和宏特任准教授、Phung Quan Manh 准教授、博士前期課程学生 Austen Vic さん、理化学研究所 開拓研究所 天池一真研究員に御礼申し上げます。また、本研究を進めるにあたって、有益なご助言を賜りました京都大学 高等研究院 吉村征彦特定助教、名古屋大学大学院理学研究科 博士後期課程学生 井本大貴さんに深く感謝申し上げます。本研究は、JSPS 科学研究費助成事業 特別推進研究 (19H05463)、若手研究 (22K14782)、国際共同研究加速基金 (22K21346)、理研 CPR プロジェクト、JST ACT-X「環境とバイオテクノロジー」領域 (JPMJAX22B3)、文部科学省共同利用・共同研究拠点形成事業 (JPMXP1323015482)、公益財団法人 立松財団、公益財団法人 日本科学協会 笹川科学研究助成、公益財団法人 中島記念国際交流財団、公益財団法人 内藤科学技術振興財団、公益財団法人 岩谷直治記念財団の助成を受けて行われました。最後に、我々の研究を紹介する機会をいただきました日本化学会 生体機能関連化学部会・バイオテクノロジー部会幹事の先生方、特にニュースレター編集委員の先生方に心より御礼申し上げます。

### 参考文献

- [6] Usami, A.; Kono, H.; Austen, V.; Phung, Q. M.; Shudo, H.; Kato, T.; Yamada, H.; Yagi, A.; Amaike, K.; Fujimoto, K. J.; Yanai, T.; Itami, K. In-insect synthesis of oxygen-doped molecular nanocarbons, *Science*, **2025**, 388, 1055–1061.
- [7] Li, Y.; Segawa, Y.; Yagi, A.; Itami, K. A Nonalternant Aromatic Belt: Methylene-Bridged [6]Cycloparaphenylene Synthesized from Pillar[6]arene, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142, 12850–12856.
- [8] Cheng, T.; Wu, J.; Wu, H.; Chilukuri, R. V.; Huang, L.; Yamamoto, K.; Feng, L.; Li, W. Chen, Z.; Guo, H.; Liu, J.; Li, S.; Wang, X.; Peng, L.; Liu, D.; Guo, Y.; Fu, B.; Li, Z.; Liu, C.; Chen, Y.; Tomar, A.; Hilliou, F.; Montagné, N.; Jacquin-Joly, E.; d’Alençon, E.; Seth, R. K.; Bhatnagar, R. K.; Jouraku, A.; Shiotsuki, T.; Kadono-Okuda, K.; Promboon, A.; Smagghe, G.; Arunkumar, K.P.; Kishino, H.; Goldsmith, M. R.; Feng, Q.; Xia, Q.; Mita, K. Genomic adaptation to polyphagy and insecticides in a major East Asian noctuid pest, *Nat. Ecol. Evol.*, **2017**, 1, 1747–1756.
- [9] Wang, R-L.; Xia, Q-Q.; Baerson, S. R.; Ren, Y.; Wang, J.; Su, Y-J.; Zheng, S-C.; Zeng, R-S. A novel cytochrome P450 CYP6AB14 gene in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and its potential role in plant allelochemical detoxification, *J. Insect Physiol.*, **2015**, 75, 54–62.

## $\beta$ -ガラクトシダーゼ応答性環状アンチセンス核酸による RNA 切断制御： トポロジー拘束型スイッチオフと酵素応答型スイッチオン

<sup>1</sup>東京科学大学 生命理工学院宮地 健人<sup>1</sup>, 清尾 康志<sup>1</sup>

**著者紹介：**佐賀県伊万里市出身。東京科学大学生命理工学院博士後期課程 3 年。修士課程までは糖鎖の合成および評価に携わる。その後、製薬企業のメディシナルケミストとして働きながら、社会人博士として核酸化学の研究に取り組む。ラボでは、B4 の頃から指導してきた後輩たちの成長を感じ、嬉しくなる今日この頃。趣味はゴルフで、目標はシングルプレーヤー。

### 1. はじめに

アンチセンス核酸 (ASO) は標的 RNA と二重鎖を形成し、RNase H による分解やスプライシング制御を介して遺伝子発現を調節する。化学修飾や薬物送達技術の進展により有効性・安全性・体内動態は大きく向上した一方、アンチセンス活性の時空間的制御は依然として困難である。そこで我々は、非標的細胞では不活性で標的細胞でのみ活性化されるプロドラッグ型 ASO の開発を進めてきた。これまでに、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ応答性の鎖状 ASO を報告しているが<sup>[1][2]</sup>、チミン O4 位に化学修飾を導入し塩基対形成を阻害するのみでは ASO/RNA 二重鎖形成や RNase H による RNA 切断を十分に抑制できなかった。そこで本研究では、より精密なアンチセンス活性制御を目指し、塩基対形成阻害にトポロジー拘束を組み合わせた二重のスイッチオフ機構を有する  $\beta$ -ガラクトシダーゼ応答性環状 ASO の合成および機能評価を行った<sup>[2]</sup>。

### 2. $\beta$ -ガラクトシダーゼ応答性環状 ASO の合成

環状 ASO の合成には、銅触媒クリック反応を利用した。自己犠牲リンカーの長さが異なる 2 種類のアルキン含有修飾チミジン鎖を鎖状 ASO に導入し、**Figure 1** に示す条件下、ビスアジドまたはトリアジドリンカーと反応させることで、環状 ASO を合成した。この反応では、TCEP·HCl は脱硫反応の抑制に、NaHCO<sub>3</sub> は反応効率の向上に大きく寄与している。

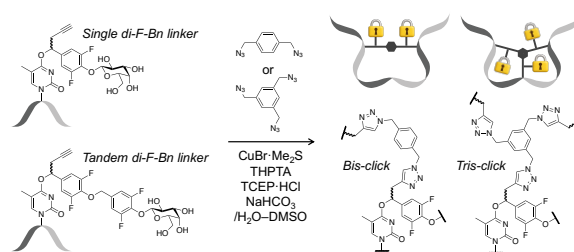


Figure 1. トポロジーを拘束した環状ASOの構造

### 3. 環状 ASO の二重鎖安定性評価

次に、環化によるトポロジー拘束が二重鎖安定性に及ぼす影響を評価した (**Figure 2**)。5 塩基間を架橋した **cASO 1** および **cASO 2** では環化による更なる  $T_m$  低下は認められなかった。一方、9 塩基間を架橋した **cASO 3** は 32.4 °C の  $T_m$  値を示し、コントロール ASO に比べ 29.5 °C、対応する **IASO 3** に比べ 9.2 °C 低下した。これは、短く剛直なリンカーによる長距離架橋が塩基スタッキングやらせん構造を乱したことを示唆する。さらに、3 カ所を架橋した **cASO 4** および **cASO 6**、9 塩基間を架橋しループ部分に追加の修飾を加えた **cASO 5** および **cASO 7** では更なる不安定化が確認され、 $T_m$  値は 30 °C 以下まで低下した。

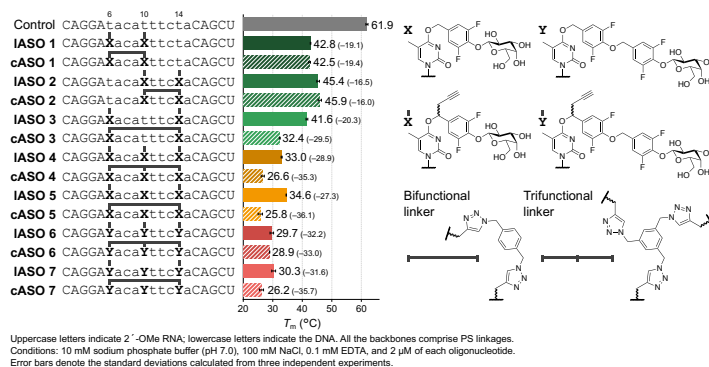
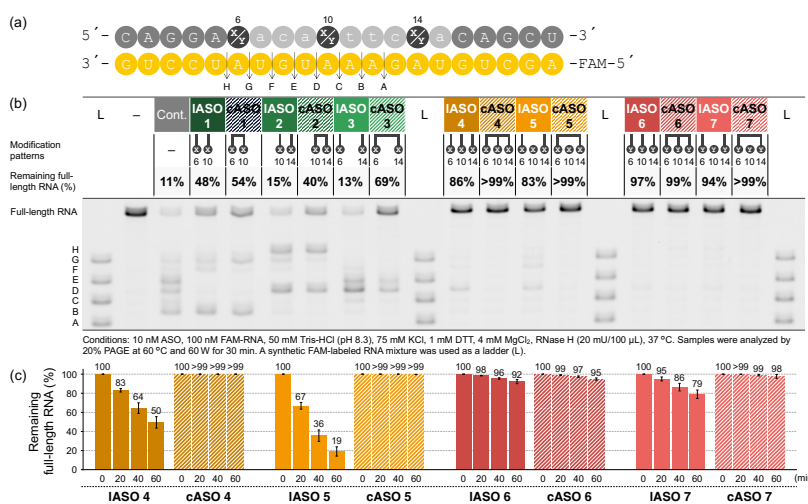


Figure 2. 環状ASOおよび対応する鎖状ASOの二重鎖安定性評価

#### 4. RNase H による RNA 切断評価

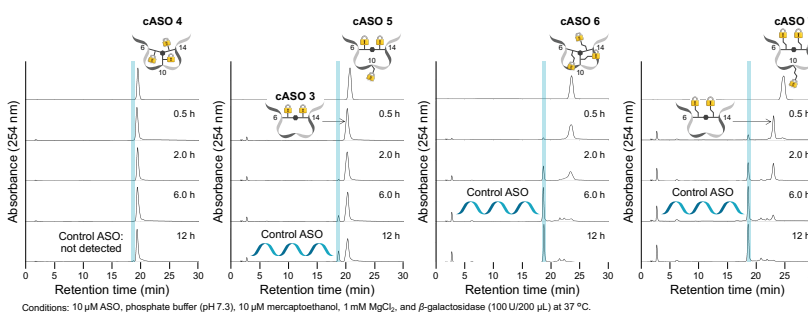
続いて、トポロジー拘束が RNase H による RNA 切断に及ぼす影響を評価した (**Figure 3**)。環化による  $T_m$  変化が小さい **cASO 1** および **cASO 2** では RNA 切断の顕著な抑制は認められなかった。一方、**cASO 3** では、全長 RNA 残存率が **IASO 3** の 13% から 69% へと増加したが、D および E での切断は依然として観察された。一方、 $T_m$  値が 30 °C 以下となった **cASO 4** および **cASO 5** では RNA 切断がほぼ完全に阻害され、処理時間を 60 分まで延長してもその効果は持続した。これに対し、**IASO 4** および **IASO 5** では 60 分トポロジー拘束による二重鎖不安定化を有する **cASO 6** および **cASO 7** による RNA 切断は顕著に抑制された。



**Figure 3.** (a) RNase Hによる切断位置 (b) RNase H処理後の切断パターン (c) 時間経過に伴う全長RNAの残存率

## 5. $\beta$ -ガラクトシダーゼ処理による環状 ASO の活性化

最後に、**cASOs 4-7** について、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ処理により修飾が切断され、その機能が回復するかを検討した。中性条件下で酵素処理を行い、HPLC で時間経過に伴う変化をモニターした (**Figure 4**)。その結果、**cASO 4** では 12 時間後においてもコントロール ASO のピークは検出されず、**cASO 5** でも約 20%



**Figure 4.**  $\beta$ -ガラクトシダーゼで処理した際の時間経過に伴う活性化

の生成にとどまった。一方、タンデムリンカーを有する **cASO 6** および **cASO 7** では、修飾が時間依存的に切断され、12 時間後には定量的にコントロール ASO を生成した。これは、自己犠牲性リンカーの伸長により  $\beta$ -ガラクトシダーゼと ASO 間の立体的または電子的反発が緩和され、ガラクトース部位へのアクセスが改善したためと考えられる。さらに、処理後の **cASO 6** および **cASO 7** の  $m/z$  値および  $T_m$  値はコントロール ASO と良い一致を示し、RNase H による RNA 切断活性も同程度まで回復した。

## 6. おわりに

本研究では、Watson-Crick 塩基対形成の阻害と環化によるトポロジー拘束を組み合わせた二重スイッチ機構を利用し RNA 切断を制御する、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ応答性環状 ASO の合成および機能評価を行った。本手法はガラクトース部位を他の応答性修飾に変換することで、多様な内因性刺激に応答する分子設計へと容易に拡張可能である。本戦略は、アンチセンス活性の時空間的制御を可能にする化学的基盤を提供し、次世代核酸医薬の開発に向けた有力な設計指針となる。

## 参考文献

- [1] Miyaji, K. *et al. Bioconjugate Chem.* **2024**, 35, 1587–1607.  
[2] Miyaji, K. *et al. Bioconjugate Chem.* **2025**, 36, 1820–1837.

## 生理条件下で除去可能なセレノシステイン保護基の開発と機能評価

<sup>1</sup> 名古屋大学大学院工学系研究科<sup>2</sup> 名古屋大学未来社会創造機構 ナノライフシステム研究所<sup>3</sup> 名古屋大学未来社会創造機構 量子化学イノベーション研究所吉富文香<sup>1</sup>, 中津幸輝<sup>1</sup>, 林剛介<sup>1</sup>, 村上裕<sup>1,2,3</sup>

**著者紹介：**名古屋大学大学院 工学研究科 村上研究室所属 修士課程2年の吉富です。趣味は旅行で、日本の真ん中あたりに住んでいる利点を生かして、西へ東へ、そして北へと様々な場所をこれまで巡ってきました。研究に煮詰まった際は、気分転換に散歩をすることも多いです。

さて、私は日頃より、ペプチド固相合成やセレノシステインを中心に研究に取り組んでおりますが、この度はこのような栄えある賞をいただき、大変光栄に思います。本研究を進めるにあたり、村上先生、林先生をはじめ、研究室の先輩方より多くのご指導とお力添えをいただきました。改めて深く感謝申し上げます。今回の受賞を励みに、今後もより一層研鑽に努めて参りますので、変わらぬご指導のほどよろしくお願い申し上げます。

## 1. 序論

セレノシステイン (Sec) を含むタンパク質であるセレノタンパク質は生体内で細胞の抗酸化防御および酸化還元ホメオスタシスの維持において重要な役割を果たすことが知られている[1]。また、Sec 側鎖のセレノールは、 $pK_a = 5.3$  であり、生理条件下で大部分がアニオンとして存在するため高い求核性を示す。加えて炭素-セレン間の結合が弱くラジカル化しやすいという性質をもつ。これらの特殊な性質から、これまでにペプチドやタンパク質の部位特異的修飾反応や、ペプチド連結反応への応用がなされてきた[2]。Sec を含むペプチド/タンパク質は研究対象としての重要度が高いにもかかわらず、Sec を含むペプチド/タンパク質は遺伝子工学的に作製するのが難しく、化学合成への依存度が高い。ペプチド化学合成において一般的に利用されるペプチド固相合成法では、副反応を抑えるため、使用するアミノ酸側鎖に保護基を導入する必要がある。しかし、Sec 側鎖のセレノール保護基は他のアミノ酸と比べて種類が少なく、脱保護に厳しい条件が求められることも多い。また、固相合成に耐え、その後生理条件下で脱保護可能な保護基はほとんど報告例がない。そこで本研究では、Sec の保護基として trifluoroethyl allyloxycarbonyl aminomethyl (TfeAllocam) 基を導入した新たな Sec モノマーを開発した (図1)。TfeAllocam 基は当研究室の先行研究においてシステイン (Cys) の保護基として開発されたものであり、TfeAllocam 保護 Cys モノマーは Fmoc ペプチド固相合成に適応可能かつ水溶液中で脱保護可能であることが確かめられている。

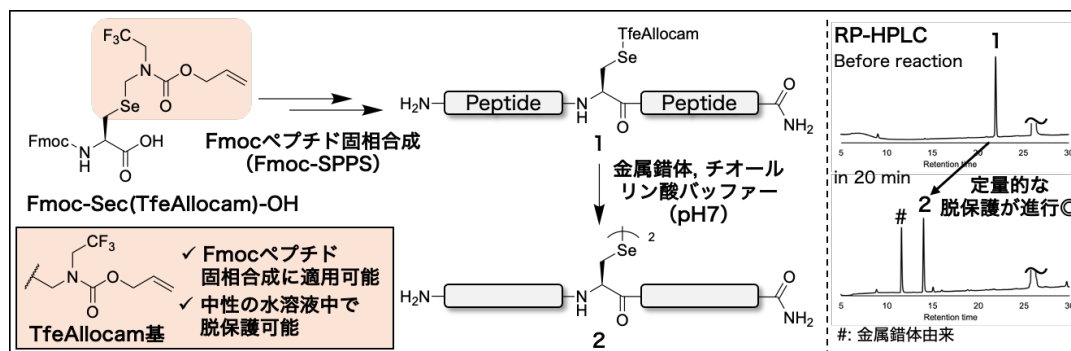


図1. Fmoc ペプチド固相合成に適用可能な新規セレノシステインモノマーの開発の概略図



## 2. 新規セレノシステインモノマーの合成と Fmoc ペプチド固相合成への適用

本研究ではまず、セレノシスチンを出発原料とし、「Fmoc-Sec(TfeAllocam)-OH」と名付けた TfeAllocam 保護された Sec モノマーの合成を3段階で行った。続いて、Fmoc-Sec(TfeAllocam)-OH を内部または N 末端に導入したモデルペプチドの合成を Fmoc ペプチド 固相合成を用いて行った。これらのペプチドは TFA カクテルによる切り出し後、HPLC 分析により、メインピークで合成可能であることが確かめられ、高収率で得られた。これらの結果より、この新規セレノシステインモノマーが Fmoc ペプチド固相合成へ適用可能であることが確かめられた。

## 3. 中性の水溶液中での TfeAllocam 基の脱保護

続いて、合成したモデルペプチドを用いて、TfeAllocam 基の脱保護について検証した。中性の水溶液中、Ru 錯体[3]または Pd 錯体を用いて、大過剰のチオール添加剤（アリル基のスカルベンジャーとしての役割）存在下、脱保護反応を実施した（図 1）。その結果、配列の内部に Sec モノマーをもつモデルペプチドの脱保護は効率的に進行した。一方、N 末端に Sec モノマーをもつモデルペプチドは、N 末端がセレナゾリジンに変化した分子量に一致するペプチドが一部生成した。これは、TfeAllocam 脱保護過程で発生するホルムアルデヒドが N 末端セレノシステインと反応したことで生成したと考えられたため、反応系中にアルデヒド捕捉剤を加えたところ、脱保護反応は定量的に進行し、目的の脱保護ペプチドが得られた。以上の結果より、TfeAllocam 基が中性の水溶液中脱保護可能であることが確かめられた。

## 4. 他のセレノシステイン保護基との脱保護における直交性の検証

Sec を2つ以上含むペプチドに直交性を有する2つの保護基を導入すると、位置選択的な Sec の修飾操作が可能となる。そこで、既存の保護基であるパラメトキシベンジル（PMB）基またはセレナゾリジン存在下での選択的な脱保護反応を試みた。初めに、TfeAllocam 基と PMB 基、TfeAllocam 基とセレナゾリジンでそれぞれ保護された2つのセレノシステインを含むモデルペプチドを合成した。合成した2本のモデルペプチドにおける TfeAllocam 基の選択的な脱保護反応は水溶液中、Ru 錯体を用いて定量的に進行した。セレナゾリジンの選択的な脱保護反応は、過去に報告されている塩化銅を用いて実施した結果、定量的に進行した。PMB 基の選択的な脱保護に関しては、PMB 基と TfeAllocam 基の両方が脱保護されたペプチドが約 20%確認されたものの、これらの結果より、TfeAllocam 基が既存の保護基である PMB 基とセレナゾリジンそれぞれと直交性を有することが明らかとなった。特に、TfeAllocam 基とセレナゾリジンは脱保護において非常に高い直交性を有することが示されたといえる（図 2）。これは TfeAllocam 基の応用範囲を広げる結果となった。

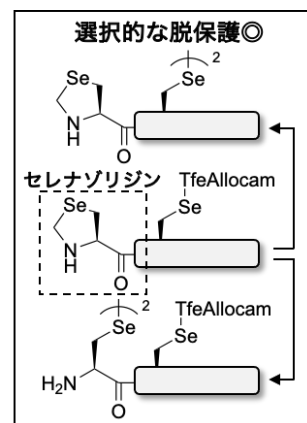


図 2. TfeAllocam 基とセレナゾリジンの脱保護における直交性

## 5. 結論

本研究では、Fmoc ペプチド固相合成に適用可能かつ、水溶液中で脱保護可能な保護基を有する新たなセレノシステインモノマーを開発した。この保護基は現在使用されている保護基と脱保護における直交性を有することが明らかとなった。今後、このモノマーを生体内に存在するセレノタンパク質に導入し、その活性を制御することで、セレノタンパク質の機能の解明への貢献等が期待される。

## 参考文献

- [1] Minich W. B., *Biochem.*, **87**, S168-S177 (2022). [2] Zhao Z., Laps S., Gichtin J. S., Metanis N., *Nat. Rev. Chem.*, **8**, 211–229 (2024). [3] Kamo N., Kujirai T., Kurumizaka H., Murakami H., Hayashi G., Okamoto A., *Chem. Sci.*, **12**, 5926-5937 (2021).

## Award Accounts

## 🏆 第19回バイオ関連化学シンポジウムポスター賞

配位ケモジェネティクスによるアデノシン受容体の活性制御  
及びオーファン受容体への適用拡大<sup>1</sup>名古屋大学大学院 工学研究科<sup>2</sup>名古屋市立大学大学院 医学研究科<sup>3</sup>名古屋大学 未来社会創造機構 量子化学イノベーション研究所井上 始<sup>1</sup>, 菅原 拓人<sup>1</sup>, 嶋田逸誠<sup>2</sup>, 加藤洋一<sup>2</sup>,  
堂浦智裕<sup>1</sup>, 清中茂樹<sup>1,3</sup>

**著者紹介：**名古屋大学大学院 工学系研究科 博士後期課程1年の井上始です。小学生の頃は落ち着きがなくて勉強があまり好きではありませんでした。礼儀を身につけるために初めた囲碁の影響で数字や図形の奥深さに魅了され、中学生のときに数学にはまりました。高校生のときに物理学や化学を学んでとても面白いと感じましたが、やはり一番は数学が好きで大学では理学部の数学科に進学することを考えていました。しかし、現代文が壊滅的に苦手だったため二次試験で現代文がある理学部への進学は諦め、就職が良いと噂されていた工学部に進学することにしました。幼少期から生き物が好きだったこともあり、工学部では生物学を学べる学科を選択しました。

数学が好きだったという話をしましたが、自身の身近な人が精神疾患を患っていたこともあり中枢神経回路の機構にも興味を抱いていました。そのため、大学の研究室選びでは学科内で唯一中枢神経を研究対象の一つとして扱っていた研究室に入ることに決めました。今後の博士課程では神経機能をはじめとする様々な生理現象を解き明かすためのケミカルバイオロジック的手法を身につけるとともに、将来的に多くの人類を救うような研究ができるよう邁進して参りたいと思います。最後に、本研究を遂行するにあたりご指導して下さった清中茂樹教授をはじめとする先生方、日々の研究室生活を支えてくださっている先輩や同期、後輩の皆様にこの場を借りて深く御礼申し上げます。

## 1. 本研究の背景及び戦略

G タンパク質共役型受容体 (G protein-coupled receptor: GPCR) は特徴的な7回膜貫通型の構造を有して、リガンドや光など細胞外からの情報を細胞内シグナルへ変換する役割を担う。GPCR を介した細胞応答は様々な生理機能を司り、活性化の異常は様々な疾患とも関連することから GPCR は重要な創薬標的と考えられている。また、ヒトには800種類以上のGPCRが存在するが機能未知なGPCRも数多く存在するため、GPCRの生理機能を解明する手法が求められている。GPCRの生理機能を解明する従来法として、GPCRに対するリガンドを投与して応答を評価する薬理学的手法がある。しかし、GPCRの中にはリガンドが同定されていないオーファン受容体と呼ばれる機能未知なGPCRも数多く含まれる。そのため、GPCRの機能解明に向けて薬理学的手法とは異なる新たな受容体の活性制御法の開発が求められている。

今回我々は、活性化時の構造変化に着目した人工アロステリックサイト導入により、金属イオン添加によるGPCR活性の阻害制御を目指した(図1)。多くのGPCRはリガンド結合時に7回膜貫通ドメイン(7TMD)のTM6がTM5に近接するように大きく屈曲し、そこにGタンパク質が結合することで細胞内にシグナルを流す(図1a)。そこで我々は、金属イオンとの配位結合形成によってその構造変化を制御で

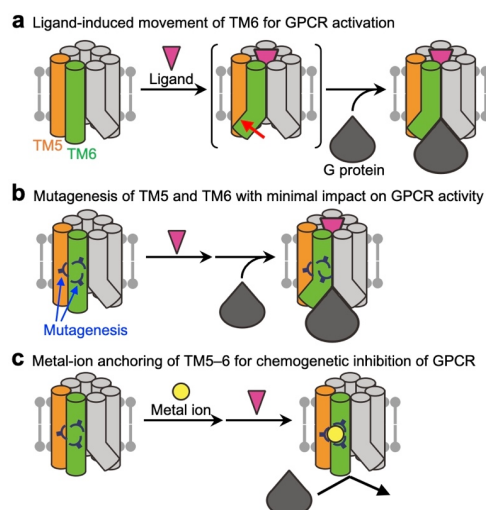


図1. 金属イオンを用いた本研究の受容体活性制御法

できれば、リガンド結合とは独立して GPCR の活性を制御できると着想した。具体的には、活性化時に構造変化が起こる TM5 と TM6 に配位性アミノ酸を変異導入し、金属イオンと配位結合を形成させることにより活性化時の構造変化を抑制できると考えた (図 1 b, c)。すなわち、リガンド結合能を損なうことなく、金属イオン添加により変異型 GPCR の活性を選択的に阻害するケモジェネティクス手法である。

## 2. アデノシン受容体の活性制御

まず、構造情報が多数取得されているアデノシン A<sub>2A</sub> 受容体に本手法を適用した。用いる金属イオンとしては Cu(II) を選択した。多くの Cu(II) 結合タンパク質は His、His、Cys の 3 配座で配位サイトを構成する。A<sub>2A</sub>R は TM6 に内在の H250、C254 が存在するため、TM5 上のアミノ酸を His に置換した変異体を 4 つ作製した (V178H, V179H, F182H, F183H) (図 2a)。スクリーニングの結果、F182H 変異体が受容体機能を損なうことなく銅イオンによってアデノシン活性が強く阻害される変異体として得られた (図 2b)。我々はこの変異体を HHC 変異体と命名した。

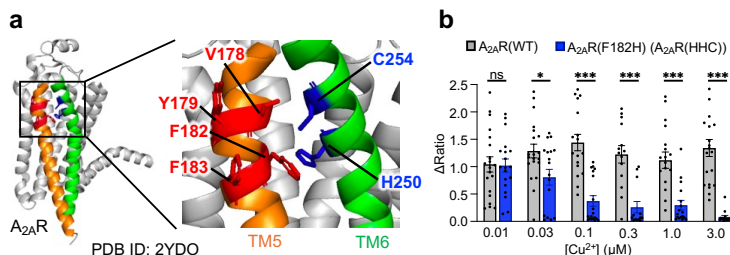


図 2. アデノシン A<sub>2A</sub> 受容体に対する銅イオンによる受容体活性阻害

## 3. 銅イオンによる受容体活性阻害のメカニズム解析

HHC 変異体は、内因性の配位性アミノ酸である H250 及び C250、そして導入した F182H に銅イオンが配位結合することを想定して設計された変異体である。これを確かめるため、F182H に加えて内因性の配位性アミノ酸である H250 及び C250 をそれぞれ Phe、Ala で置換した変異体を作製した (F182H/H250F 及び F182H/C254A)。その結果、どちらの変異体でも銅イオンによる阻害効果が消失し、HHC 変異体では銅イオンが F182H、H250、C250 に配位結合して受容体活性を阻害することが示唆された (図 3)。

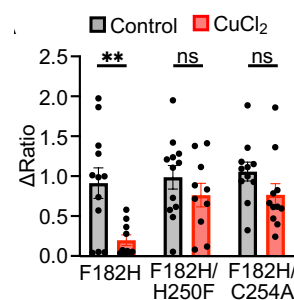


図 3. HHC 変異体 (F182H) に対する銅イオン配位サイトの確認

## 4. オープン受容体への適用拡大

本手法ではリガンド情報を必要とせず GPCR を活性制御できる。そこで、リガンド未知の受容体であるオープン受容体に対して適用拡大した。オープン受容体の 1 種として、主に脳神経細胞の 1 次繊毛に局在し脳の形成・発達に関与していると考えられている GPR161 に着目した。この受容体はリガンドが結合していない状態でも恒常的な活性を持つことが知られている。A<sub>2A</sub>R のときと同様の配位サイト (HHC) を GPR161 に導入し、銅イオンを処置することによりこの恒常活性を阻害することに成功した (図 4)。さらに、本手法を用いてオルガノイドに発現している GPR161 の活性を阻害することにより、オルガノイドの形成過程を制御することに成功した。

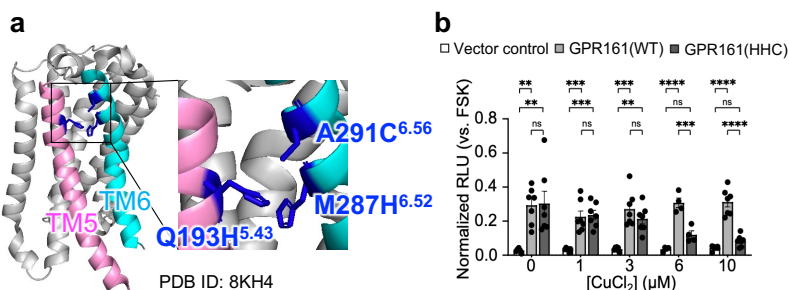


図 4. オープン受容体 (GPR161) に対する銅イオンによる受容体活性阻害

## 5. 総括

本研究では、金属イオンを用いた新たな GPCR 活性制御法を開発することに成功した。さらに、本手法を用いることによりリガンド未知であるオープン受容体の活性制御に成功した。今後、本手法を用いることでこれまで機能が未知であった様々な受容体の生理機能が明らかになることが期待される。



## Award Accounts

## 🌟 第 19 回 バイオ関連化学シンポジウムポスター賞

## LC-Raman スクリーニングによる新規天然硫黄化合物探索法の開発

<sup>1</sup> 早稲田大学大学院先進理工学研究科<sup>2</sup> 株式会社島津製作所<sup>3</sup> 人間環境大学総合環境学部<sup>4</sup> 早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構<sup>5</sup> 早稲田大学先進生命動態研究所京谷拓磨<sup>1,2</sup>, 中島琢自<sup>3,4</sup>, 安藤正浩<sup>4</sup>, 竹山春子<sup>1,4,5</sup>

**著者紹介：**早稲田大学大学院 先進理工学研究科 博士課程一年 竹山研究室所属。2025 年 4 月株式会社島津製作所入社と同時に社内制度を利用して博士後期課程に進学、現在に至る。研究分野は分析化学、天然物化学。キーワードは、LC-Raman、ラマン分光、液体クロマトグラフィー、放線菌、天然化合物など。

この度はこのような栄誉ある賞を頂戴し、誠に光栄に存じます。これまで研究室の先輩方が本学会でポスター賞を受賞される姿に刺激を受け、私もいつかこの場で評価を賜りたいと願っておりました。その願いが叶ったことを大変嬉しく思います。本研究を進めるにあたりご指導・ご助言を賜りました竹山教授・安藤准教授・中島教授、ならびに LC-Raman システムの共同開発にご協力いただいた島津製作所・堀場製作所の皆様に心より感謝申し上げます。今後も本受賞を励みに一層努力して参りますので、引き続きご指導のほどよろしくお願い申し上げます。

## 1. 序論：創薬資源探索における課題と構造ベーススクリーニングの必要性

微生物由来の二次代謝産物は、医薬品のリード化合物として多大な潜在力を有している<sup>1</sup>。しかし、伝統的な生物活性を指標とするスクリーニング手法では、複雑な天然物混合物からのターゲット化合物の単離・精製、およびその後の構造同定に多大な時間と労力を要する。さらに、得られる構造情報が限られるため、既知化合物の再発見（リディスカバリー）が非効率性を生む主要なボトルネックとなっている<sup>2</sup>。したがって、単離・精製前の初期段階において、化合物の構造情報を迅速に取得し、標的を絞り込む「構造ベース」の新規探索戦略の確立が強く求められている。

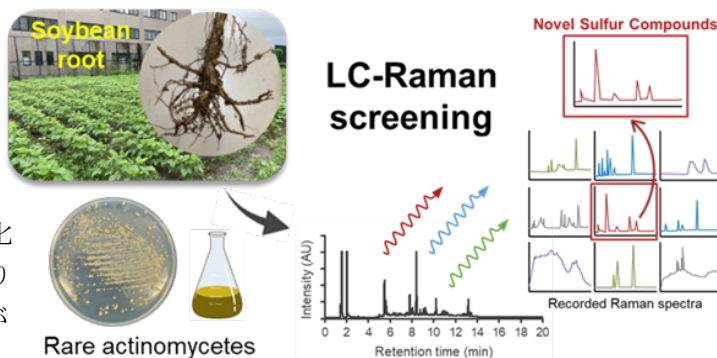


図 1. LC-Raman スクリーニングの概要

本研究ではこの課題を解決するため、液体クロマトグラフィー（LC）による分離機能と、分子の構造情報取得に優れるラマン分光（Raman）を統合した新規分析装置「LC-Raman」を開発した（島津製作所、堀場製作所との共同開発）。LC-Raman を用いることで、微生物培養抽出物などの複雑な混合物中の各成分を分離しつつ、網羅的にラマンスペクトルを取得できる。これにより、スペクトルに基づく構造推定から、目的化合物の候補を培養抽出液の段階で迅速に選抜することが可能となる。本研究では、LC-Raman の有効性を実証するため、多様な構造・活性を有し、かつラマン分光で特徴的なバンドを示すことが知られる硫黄化合物に着目し、新規硫黄化合物の構造ベース探索を目的とした「LC-Raman スクリーニング法」を考案・適用した（図 1）。

## 2. LC-Raman を用いた新規硫黄化合物のスクリーニングと候補選抜

本スクリーニングの実証対象として、大豆の根または根圏土壌から分離・保存されていた放線菌 205 株の中から、硫黄化合物産生に関与する新規合成遺伝子クラスターを有する希少放線菌株を選抜した。当該菌株を生産培養した後、その酢酸エチル抽出物を LC-Raman 分析に供した。

抽出物中の各成分は LC により分離され (図 2A)、5 秒間隔で専用プレート上に自動的に分画された。このプレート上の乾固物から、合計 207 本のラマンスペクトルを網羅的に取得した (図 2B)。これらのスペクトルを解析した結果、硫黄化合物の特徴的なバンドパターンに基づき、チアゾール骨格を有する硫黄化合物と推定される 2 つの候補化合物が選抜された (図 2C)。

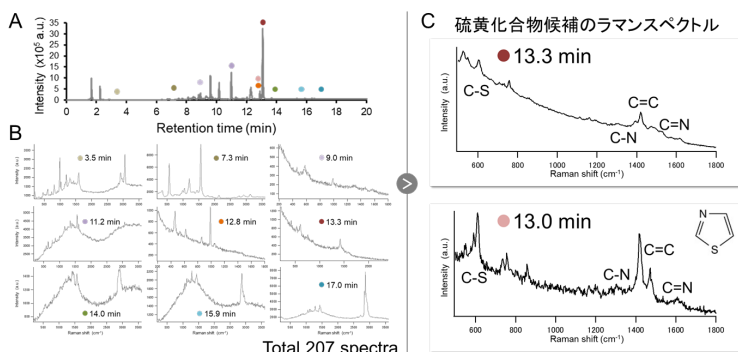


図 2. 放線菌培養液抽出物の LC-Raman 分析結果

(A) LC クロマトグラム (B) 取得されたラマンスペクトルの概要  
(C) 硫黄化合物候補 2 種のラマンスペクトル

### 3. LC-MS 分析とデータベース照合による候補化合物の構造検証および新規性担保

LC-Raman スクリーニングにより得られた構造推定結果の妥当性を検証するため、同一の培養液抽出物を用いて LC-MS (質量分析) 分析を実施した。選抜された 2 つの候補化合物について  $m/z$  値から精密質量分析を行い、その分子組成式を推定した結果、両化合物が硫黄原子を含有することが確認され、ラマンスペクトルに基づく推定が裏付けられた。

さらに、これら候補化合物の新規性を担保するため、精密質量や推定された組成式、UV 吸収等の化学分析データと、既知天然物データベース (Dictionary of Natural Products) および化学情報データベース (CAS SciFinder®) との照合を行った。その結果、合致する化合物はデータベース上に存在せず、選抜された 2 化合物が新規化合物である可能性が強く示唆された。

### 4. 新規硫黄化合物の単離・構造決定、および生物活性評価

最終的に、スクリーニングで立てた構造仮説 (チアゾール骨格を有する新規硫黄化合物) の検証を目的として、目的化合物の単離・精製、および構造解析を実施した。精製された化合物について NMR (核磁気共鳴) 分析による詳細な構造解析を行った結果、本化合物はチアゾール骨格を有する新規硫黄化合物であることが最終的に同定された。これにより、LC-Raman による初期推定が正確であったことが実証された。加えて、同定された目的化合物の抗菌活性評価を実施したところ、うち 1 つは明確な抗菌活性を示した。

### 5. 結論 : LC-Raman スクリーニング戦略の有効性と今後の展望

本研究では、LC とラマン分光を統合した新規分析装置 LC-Raman を基盤とする構造ベースの新規硫黄化合物探索手法を設計・構築した。これを放線菌の培養抽出物に適用し、チアゾール骨格を有する新規硫黄化合物を効率的に見出すことに成功した。この一連の探索プロセスは、培養抽出という早期段階でラマンスペクトルによる構造仮説を迅速に確立し、LC-MS およびデータベース照合により新規性を担保した後、最終的に精製・NMR 解析で構造を同定するという戦略の有効性を実証した。

本 LC-Raman アプローチは、ラマンスペクトルから得られる構造情報に基づいた選択的かつ迅速な探索を可能にする。これにより、既存の活性ベース探索におけるボトルネックを緩和し、創薬リード化合物の獲得を加速する有望な構造ベーススクリーニング戦略になり得ると期待される。

### 参考文献

- [1] David J. Newman; Gordon M. Cragg. *J. Nat. Prod.* **2020**, 83(3), 770–803.
- [2] Y. Takahashi; T. Nakashima. *Antibiotics* **2018**, 7(2), 45.

## ロバストな反応に基づく多価不飽和脂肪酸の自動固相合成

(Automated synthesis of polyunsaturated fatty acids based on robust reaction conditions)

<sup>1</sup> Graduate School of Engineering, The University of Tokyo  
**SHI, Yaohong<sup>1</sup>**; **SAITO, Yutaro<sup>1</sup>**; **MORIMOTO, Jumpei<sup>1</sup>**;  
**SANDO, Shinsuke<sup>1</sup>**



### Author profile:

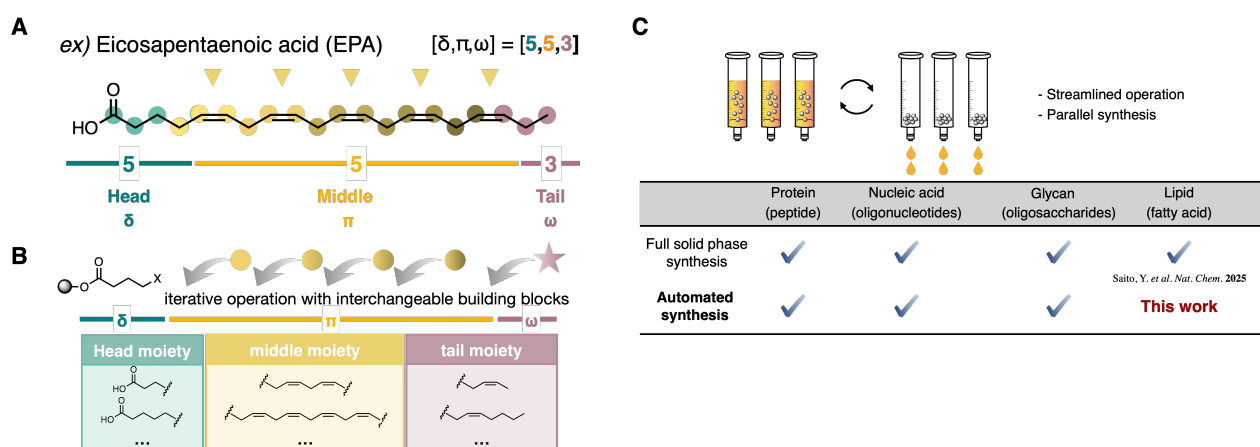
I am a third-year doctoral student in the Graduate School of Engineering at the University of Tokyo, belonging to the Sando Laboratory. I am currently a JSPS Research Fellow (DC1), and my research focuses on chemical biology, particularly on polyunsaturated fatty acids (PUFAs), solid-phase synthesis, and automated synthesis.

I am deeply honoured to receive this award. I would like to express my sincere gratitude to Professor Sando, Assistant Professor Saito, and Associate Professor Morimoto for their invaluable guidance and encouragement throughout the course of this research. Encouraged by this award, I will continue to devote myself to my research, and I would be grateful for your continued support.

### 1. Introduction

Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) function as bioactive molecules that participate in various physiological processes and have been proven to be related to multiple diseases, including diabetes, asthma, and cancer.<sup>1</sup> Advances in mass spectrometry-based lipidomics have significantly accelerated the discovery of novel PUFAs and their metabolites in biological systems.<sup>2</sup> Consequently, unnatural or naturally scarce PUFAs with unique structures have attracted increasing research attention. However, elucidating their biological functions remains a significant challenge due to the inherent difficulty in synthesizing these PUFAs.

The structure of a typical PUFA which contains sequential methylene-interrupted Z-olefins can be divided into three moieties (Fig. 1A). In this study, three parameters [ $\delta, \pi, \omega$ ] are introduced to describe the structures of different PUFAs. The head moiety comprises the carboxyl group and a saturated fatty chain, and  $\delta$  is defined as the carbon number of this moiety. The middle moiety consists of an unsaturated fatty chain, and  $\pi$  is defined as olefin number in this moiety. The tail moiety is a terminal alkyl chain, and  $\omega$  is defined as the carbon number in this moiety. Using [ $\delta, \pi, \omega$ ], for example, eicosapentaenoic acid (EPA) is expressed as [5,5,3].



**Fig. 1 Overview of this research**

(A) Representative structures of PUFAs. (B) Schematic illustration of the full solid-phase synthetic strategy of PUFAs. (C) Full solid-phase synthesis and automated synthesis of major biomolecules.

Despite the highly regular structures of typical PUFAs, available synthetic methods are still limited. In particular, there is no efficient strategy to control the three structural parameters  $[\delta, \pi, \omega]$  flexibly and accurately. To overcome these limitations, a full solid-phase synthetic strategy for PUFAs was developed by our group (Fig. 1B).<sup>3-4</sup> Compared with classical liquid-phase synthesis, the solid-phase approach simplifies operations and is readily adaptable to parallel synthesis, as has been widely demonstrated for other major biomolecules such as peptides and nucleic acids (Fig. 1C).<sup>5-7</sup> By selecting appropriate building blocks, this approach allows precise control over key structural elements  $[\delta, \pi, \omega]$ , including chain length, the number and positions of double bonds, and terminal functional groups, thereby providing a robust basis for the automated synthesis of structurally diverse PUFAs.

In this study, the previously reported solid-phase synthesis was optimized into a robust, automatable protocol, enabling high-throughput construction of larger PUFA libraries.

## 2. Establishment of robust reaction conditions for automated synthesis of PUFAs.

The full solid-phase synthesis of PUFAs consists of two key steps: a chain-elongation reaction and a reduction reaction. In this study, both reactions were systematically optimized.

### [Optimization of chain-elongation reaction]

In the chain-elongation reaction, performing the reaction under the conditions for automated synthesis led to the formation of side products. The major side products were identified based on analyses by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR and X-ray fluorescence (XRF) spectrometry. Guided by the proposed side-reaction mechanism, a variety of additives were tested, and some reagents were found to suppress the formation of the side products without affecting the desired reaction. Through this optimization, robust reaction conditions suitable for the chain-elongation step were established.

### [Optimization of reduction reaction]

Next, the reduction reaction was optimized. To adapt this step to automated operation, various solvents were examined to identify conditions compatible with the automation system. Compared with toluene, which had been used in our previous study<sup>3</sup>, the other solvent was found to be more suitable for the reduction step under automated.

## 3. Automated Synthesis of the model PUFA

First, the automated synthesis of a model PUFA, [6,3,6] ( $\gamma$ -linolenic acid, GLA), was investigated. Although the isolated yield of the product was relatively low, analysis of the crude mixture by HPLC indicated that the target compound was obtained in reasonably high purity (approximately 70%). These results demonstrate that the automated synthesis of PUFAs can be successfully achieved and that the desired product can be obtained under the established conditions.

## 4. Conclusion

In this study, based on our previously developed solid-phase synthesis of PUFAs, robust reaction conditions enabling automated synthesis were established through a series of optimizations. In addition, a model PUFA,  $\gamma$ -linolenic acid (GLA), was successfully synthesized on an automation system as a proof of concept.

### Reference:

- (1) Leuti, A. *et al. Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2020**, *159*, 133–169.
- (2) Zhou, J. *et al. J. Food Compos. Anal.* **2017**, *56*, 47–54.
- (3) Saito, Y. *et al. Nat. Chem.* **2025**, *17*, 1391–1400.
- (4) Shi, Y. *et al. RSC Adv.*, **2025**, *15*, 32263.
- (5) Behrendt, R. *et al. J. Pept. Sci.* **2016**, *22*, 4–27.
- (6) Lönnberg, H. *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 1065–1094.
- (7) Seeberger, P. H. *et al. Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4349–4394.





## 非天然ラジカル的アシル化反応を触媒する ThDP/FAD 依存性酵素探索

<sup>1</sup> 大阪大学大学院工学系研究科

藤沢修斗, 足立柚斗, 加藤俊介, 林高史

**著者紹介：**大阪大学大学院 工学系研究科 応用化学専攻 博士後期課程 1 年 林研究室所属。学部 4 年生の研究室配属より、林高史教授・加藤俊介助教（現神戸大学准教授）からの叱咤激励を頂きながら「天然の酵素を用いた反応開発」に取り組んできました。この度はこのような栄えある賞を受賞することができ、誠に光栄です。この度の受賞に恥じぬ成果を今後も報告できるよう、より一層研究活動に邁進する所存です。また、本研究を遂行するにあたり共同研究でお世話になりました、白井智量上級研究員（理研）・森祐太郎助教（神戸大学）・森聖治教授（茨城大学）・萬代充裕さん（茨城大学）・本田孝祐教授（大阪大学）・宮崎健太郎教授（大阪大学）・兒玉拓也助教（大阪大学）に深く御礼申し上げます。

### 1. 序論

*N*-heterocyclic carbene (NHC) は、カルボニル化合物の極性転換反応を促進する有機触媒として知られており、その触媒反応の過程で形成する Breslow 中間体に着目した化学反応が、数多く報告されている<sup>[1]</sup>。特に近年、この Breslow 中間体の一電子酸化により生じるアシルラジカル等価体を利用したラジカルカップリング反応の開発が盛んに行われている（図 1）<sup>[2]</sup>。しかしながら、上記のような反応で生じるラジカル種は反応性が非常に高いため、従来の拡散溶液中の反応ではこれら高活性なラジカル種同士の反応を制御することは困難である。事実、現在までに報告されている反応においても、限定的な基質適用範囲の課題が依然として残されている。

前述の課題を解決するために、本研究では、生体触媒を用いたラジカル的アシル化反応の開発に着手した。具体的には、NHC 有機触媒と同様の反応性を有するチアミンニリン酸（ThDP）と、一電子酸化剤として機能するフラビンアデニンジヌクレオチド（FAD）を補酵素として有する ThDP/FAD 依存性酵素に対して研究を展開した。まず、酵素活性部位内で ThDP と  $\alpha$ -ケト酸の反応により Breslow 中間体が形成される。そして、この Breslow 中間体と  $\alpha$ -ブロモエステルを、同じ酵素活性部位内に位置する FAD が一電子酸化・還元することで、前述のアシルラジカル等価体を含む二種のラジカル種の生成が期待される（図 1）。最後に、これら二種のラジカル種を用いて、ラジカル的アシル化反応の開発に取り組んだ<sup>[3]</sup>。

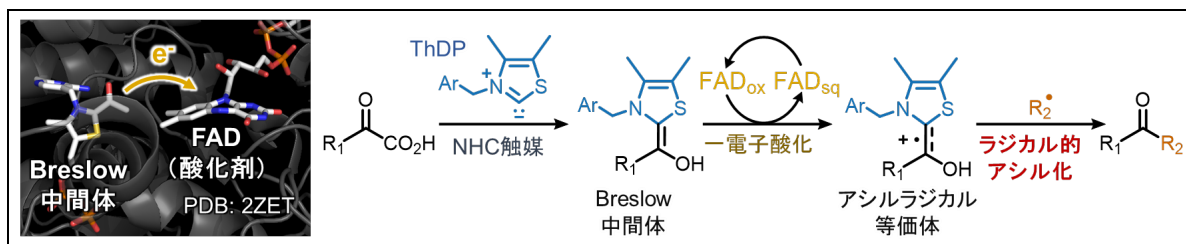


図 1. 本研究でめざすラジカル的アシル化反応

### 2. $\alpha$ -ブロモエステルのラジカル的アシル化反応を指向した酵素探索・改変

上記の仮説に基づき、本研究では、シクロヘキサン-1,2-ジオン加水分解酵素（CDH）やアセト乳酸合成酵素（ALS）をはじめとする種々の ThDP/FAD 依存性酵素のスクリーニングを実施した。その結果、好熱性放線菌 *T. bispora* 由来のアセト乳酸合成酵素（TbALS）が、ピルビン酸（**1a**）と 2-ブロモプロピオン酸エチル（**2a**）のカップリング反応に対して、有望な触媒活性を示すことが明らかとなった。さらに、遺伝子工学的に TbALS の FAD 近傍に存在するアスパラギン酸（D283）をチロシンに変異導入した D283Y 変異体では、その触媒活性が向上することを確認した（図 2 (a)）。

続いて、TbALS の触媒活性を向上させるために、酵素と基質のドッキングシミュレーションを実施した具体的には、基質 **2a** を効率的に取り込むことが可能になる変異点を予測し、その予測を基に、TbALS に対して遺伝子工学的な改変を実施することで、目的の反応を触媒する変異体の獲得をめざした。ドッキングシミュレーションの結果を参考に、基質結合部位近傍のバリン (V104) とトリプトファン (W484) を、それぞれ

リジンとヒスチジンに変異導入することで、TbALS の触媒活性が徐々に向上することが示された(図 2(b))。また、酵素濃度を高めた条件で、TbALS(D283Y/V104K/W484H)三重変異体を用いて反応を実施した際には、収率を 87%にまで高めることに成功した。加えて、同条件での基質適用範囲の検討により、 $\alpha$ -プロモエステルだけでなく、 $\alpha$ -プロモケトンや $\alpha$ -プロモアミドのラジカル的アシル化反応を制御していることが確認された。また、上記成果の中には、1 級ラジカルや 2 級ラジカル等の低寿命ラジカルを中間体とする基質を含む、困難なラジカル的アシル化反応の制御も含まれている。さらに、紫外可視吸収スペクトルや EPR スペクトルの測定により、反応系中でラジカル種が生成していることが確認され、本反応がラジカル的機構で進行していることが示唆された。

### 3. N-アシロキシフタルイミドを用いた光反応系への応用

最後に、本反応系を光反応へと応用することをめざし、N-アシロキシフタルイミドのラジカル的アシル化反応の開発を実施した(図 3)。N-アシロキシフタルイミドは、生じるアルキルラジカルの不安定さに由来して、 $\alpha$ -プロモエステルと比較してより大きな還元力を必要とする。そこで、本光反応では、FAD の光増感剤としての機能に着目し、青色 LED の照射により、その還元力を向上させることを考えた。興味深いことに、前述の TbALS は本光反応においても一定の成果を示した(収率:34%、TON:69)。さらに、同様にドッキングシミュレーションに基づく変異導入を実施することで、**5aa** (収率:56%、TON:112) を含む計 8 個の目的生成物の合成に成功した。本光反応においても同様に、1 級ラジカルや 2 級ラジカルといった低寿命ラジカル経由する、ラジカル的アシル化反応の制御を達成している。

### 4. 結論

本研究では、ThDP/FAD 依存性酵素を利用したラジカル的アシル化反応の開発を実施した。種々の酵素のスクリーニングを実施したところ、*T. bispora* 由来のアセト乳酸合成酵素 (TbALS) が、本反応に対して有望な触媒活性を示すことを見出した。さらに、ドッキングシミュレーションに基づく変異導入を酵素活性部位近傍のアミノ酸残基に施すことで、その触媒活性が徐々に向上することが確認された。また、紫外可視吸収スペクトルや EPR スペクトルの測定により、本反応がラジカル的機構で進行していることが示された。さらに、TbALS に対して青色 LED を照射することで光反応へと応用する事にも成功している。

今後、本研究の知見を基に、更なる ThDP/FAD 依存性酵素の探索と変異導入を実施することで、広い基質適用範囲や立体選択性を有した、より高活性な生体触媒の開発に取り組みたい。

### 参考文献

- [1] D. Enders *et al.* *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5606-5655. [2] M. T. Ishii *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 3854-3858. [3] S. Kato *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2025**, *147*, 14837-14844.

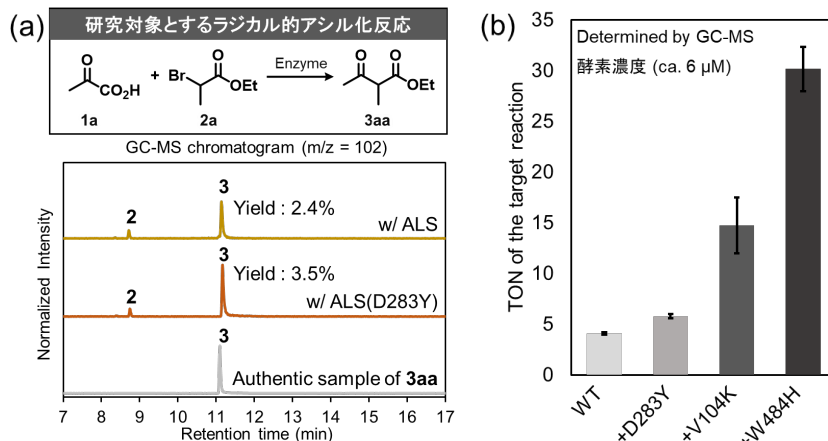


図 2. (a) 目的の反応に対する TbALS の触媒活性 (b) 変異導入による触媒活性の向上

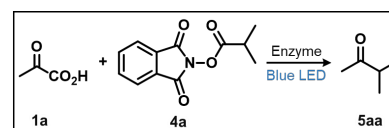


図 3. 光反応への応用

## IR700 類縁体 SiPc-1 の開発とヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-1) 感染細胞選択的な傷害技術への応用

<sup>1</sup> 慶應義塾大学大学院薬学研究科

<sup>2</sup> 自治医科大学 分子病態治療研究センター

布施 慶和<sup>1</sup>, 佐々木 栄太<sup>1</sup>, 玉置 雅治<sup>2</sup>, 川村 俊人<sup>2</sup>,  
大野 久史<sup>1</sup>, 山田 創太<sup>2</sup>, 仲宗根 秀樹<sup>1</sup>, 花岡 健二郎<sup>1</sup>



著者紹介： 慶應義塾大学大学院 薬学研究科 後期博士課程 1 年、創薬分析化学講座（花岡研究室）所属。JST-SPRING。研究分野はケミカルバイオロジー。キーワードは、近赤外蛍光色素・フタロシアニン・近赤外光免疫療法・ADC など。中学生時代から創薬研究に興味を抱き、化学と生物学の双方から探求できる点に魅力を感じ、自ら設計・合成した分子の生体機能を評価する現在の研究に没頭しています。趣味は研究後のランニングで、ストレス発散と研究のための基礎体力向上を兼ねています。

この度は、このような大変栄誉ある賞を賜り、身に余る光栄です。本研究の遂行にあたり、ご指導ご鞭撻を賜りました花岡教授、佐々木講師、山田助教、大野特任助教に心より感謝申し上げます。また、共同研究でお世話になりました自治医科大学の仲宗根教授、玉置医師、川村医師にも厚く御礼申し上げます。本受賞を糧に、さらに気を引き締め、引き続き研究に邁進して参ります。今後とも、どうぞよろしくお願い申し上げます。

### 1. 序論

近赤外光免疫療法は、抗体に近赤外蛍光色素 IRDye700DX (IR700) を標識した抗体-IR700 複合体を使用するがん治療法である<sup>[1]</sup>。標的に集積した抗体-IR700 複合体に 690 nm の近赤外光を照射することで、IR700 が活性化し、親水性から疎水性に物性が変化する。これによって、抗原抗体が凝集し、細胞膜の損傷を伴う細胞死を引き起こす<sup>[2]</sup>。抗体と光によるターゲティングを特徴とした高い治療効果を有する本治療法は、2020 年に「切除不能な局所進行・局所再発の頭頸部癌」で承認され、今後のがん治療において注目されている。しかしながら、本治療法は生体深部の腫瘍への適応が困難である。解決するためには、IR700 の誘導体化による構造展開が望まれるが、IR700 は長い合成スキームと収率の低さが課題となる。そこで本研究では、より簡便に合成可能な IR700 類縁体の開発を目指した。

### 2. IR700 類縁体 SiPc-1 の設計・合成・光学特性

我々は、IR700 の構造として、リンカーの置換位置とリンカーの合成手法に着目し、IR700 類縁体 SiPc-1 を開発した (図 1)<sup>[3]</sup>。SiPc-1 はリンカーの置換位置をフタロシアニン  $\alpha$  位から  $\beta$  位に変更したことで、フタロシアニン骨格合成時の立体反発を低減させた。そして、リンカーの合成にクリックケミストリーを活用することで、3 反応短縮し、0.1% の総収率から 0.6% に上昇させることに成功した。

さらに、同様の合成手法によって、SiPc-1 からリンカーを伸長した SiPc-2, SiPc-3 の開発に成功した。SiPc-1, SiPc-2, SiPc-3 の光学特性を IR700 と比較したところ、吸収、蛍光のわずかなブルーシフトが観察された。一方で、モル吸光係数、蛍光量子収率、一重項酸素量子収率はほぼ同程度であり、開発した SiPc-1, SiPc-2, SiPc-3 は IR700 と同程度の機能を有していると示唆された。

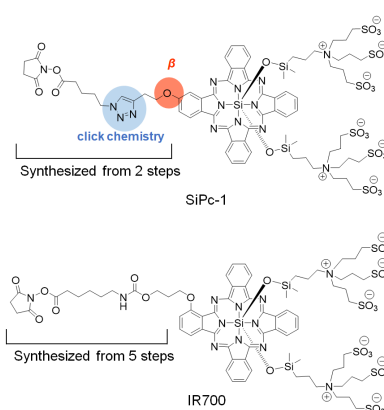


図 1, SiPc-1 と IR700 の構造の比較

### 3. 生細胞への応用

次に、開発した SiPc-1, SiPc-2, SiPc-3 をそれぞれ抗 EGFR 抗体セツキシマブに DAR=2.7 で標識した複合体 (cet-SiPc-1, cet-SiPc-2, cet-SiPc-3) を作製し、EGFR 発現の A431 細胞に対する光依存的な細胞傷害性を比較した。その結果、リンカー長の短い cet-SiPc-1, cet-SiPc-2, cet-SiPc-3 の順で細胞傷害性が高まること示された。次に、最も細胞傷害性の高かった cet-SiPc-1 と cet-IR700 との細胞傷害性を比較したところ、cet-SiPc-1 は cet-IR700 とほぼ同程度の光依存的な細胞傷害を引き起こすことが示された (図 2)。加えて、蛍光色素 CalceinAM で細胞質を染色した A431 細胞を cet-SiPc-1 で処理し、近赤外光を照射したところ、近赤外光免疫療法に特徴的な細胞膜が膨れる水泡が観察された。さらに、細胞質を染色する蛍光色素 CalceinAM が漏れ出し、細胞膜が傷害されたことが示唆され、IR700 による近赤外光免疫療法と類似した現象が観察された (図 3)。

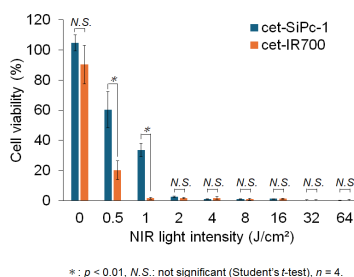


図 2, cet-SiPc-1 と cet-IR700 の光依存的な細胞傷害性の比較

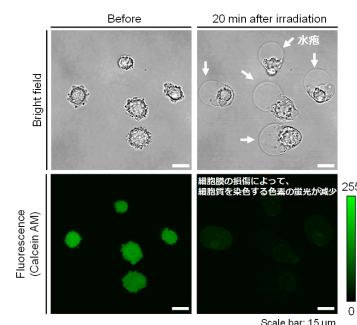


図 3, cet-SiPc-1 による水泡の形成と細胞膜の傷害

### 4. ATL 治療への応用

成人 T 細胞白血病リンパ種 (Adult T-cell leukemia/lymphoma, ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (Human T-lymphotropic virus type I, HTLV-1) の感染によって発症する末梢性血液腫である。ATL の治療には T 細胞療法が注目されているが、患者から採取した血球細胞から HTLV-1 感染細胞を選択的に殺傷する技術が必要となる。そこで、本研究で開発した SiPc-1 を用いた近赤外光免疫療法の応用として、HTLV-1 感染細胞を選択的に除去する技術へと応用した。

まず、HTLV-1 感染細胞と非感染細胞を用いて、RNA-seq による遺伝子発現解析とフローサイトメトリーによるタンパク質発現解析により CD25 を ATL に対する近赤外光免疫療法のための標的抗原と同定した。そして、抗 CD25 抗体 Basiliximab に SiPc-1 を DAR=2.4 で標識した Basiliximab-SiPc-1 複合体 (bas-SiPc-1) を作製した。3 人の ATL 患者由来のそれぞれの血球細胞に対して、bas-SiPc-1 で処理し光照射することによって、HTLV-1 感染細胞 (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>分画) を選択的に殺傷することに成功した (図 4)。

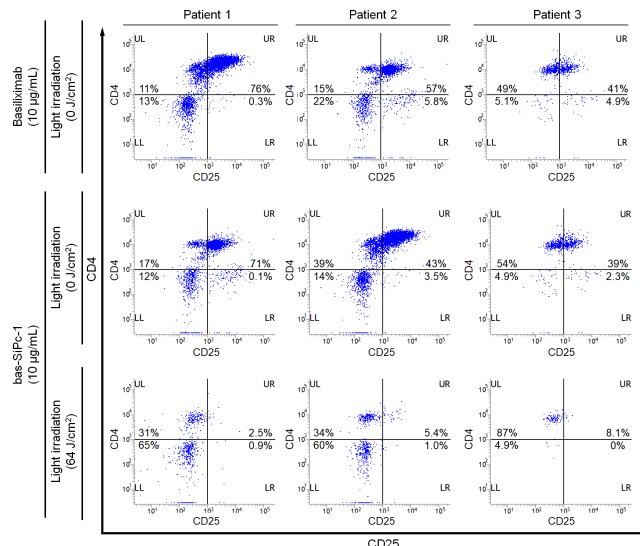


図 4, ATL ヒト臨床検体を対象とした bas-SiPc-1 による HTLV-1 感染細胞の傷害

### 5. 結論

以上より、本研究では、簡便に合成できる IR700 類縁体 SiPc-1 の開発に成功し、SiPc-1 をもとにリンカー長を変更した分子への展開に成功した。さらに、SiPc-1 は IR700 と同様に光依存的な細胞傷害と細胞膜への細胞傷害を引き起こすことを示した。そして、HTLV-1 感染細胞選択的な除去技術に、SiPc-1 による近赤外光免疫療法が有効であることを示した<sup>[4]</sup>。

### 参考文献

- [1] Mitsunaga M. *et al.*, *Nat. Med.* **2011**, *17*, 1685-91. [2] Sato K. *et al.*, *ACS cent. Sci.* **2018**, *4*, 1559-1569. [3] PCT/JP2024/ 24139. [4] Fuse Y. *et al.*, *RSC Chem. Biol.* **2025**, *6*, 1576-1584.



## リガンド指向性 ArNASA 化学による in vivo PSMA ラベリング

京都大学大学院工学研究科

杉原大, 河野正晴, 田村朋則, 浜地格



**著者紹介:** 京都大学大学院 工学研究科 修士課程二年 浜地研究室所属。研究分野はケミカルバイオロジー。この度はこのような栄えある賞を賜り、誠に光栄に存じます。化学や研究について右も左も分からなかった私に基礎から優しく丁寧に指導・ご鞭撻くださいました、浜地教授・田村准教授に深く御礼申し上げます。今後も本受賞を励みに、より一層研究に精進して参る所存です。引き続きご指導のほど、何卒よろしくお願い申し上げます。

## 1. 序論

タンパク質の選択的な化学修飾(ラベル化)は、生命現象の理解や共有結合形成に基づくユニークな医薬品開発において有用な方法論である。当研究室では、細胞内在性タンパク質をラベル化する手法として「リガンド指向性化学」<sup>[1]</sup>を長年開発してきた(図 1a)。この手法では、標的タンパク質のリガンドと機能性プローブを求電子性の脱離型反応基で連結したラベル化剤を用いる。ラベル化剤のリガンドが標的タンパク質と結合すると反応基がタンパク質上の求核性アミノ酸残基と近接することにより反応し、プローブが共有結合的に修飾される。我々はこれまでに様々な反応基を開発し、その反応特性(速度論や標的選択性、各アミノ酸との反応性など)を明らかにするとともに、生きた動物個体(in vivo)における応用の可能性を模索してきた<sup>[2][3]</sup>。特に細胞表面の膜タンパク質については AI (Acyl imidazole) 反応基を用いた検討が先行しており、最近では AI 型ラベル化剤を生きたマウス脳内に直接注入することによって内在性神経伝達物質受容体の in vivo ラベリングを達成している<sup>[4][5]</sup>。一方で、脳以外の臓器・組織に発現する内在性タンパク質の選択的ラベリングは依然として困難である<sup>[6]</sup>。これは、より一般的な生体内環境で機能するラベル化剤には「夾雑物を多く含む血中での高い安定性(生体直交性)」と「クリアランス前に標的を迅速に修飾できる高い反応性」の両方が求められるためである。しかしこの二つの要件は一般にトレードオフの関係にあり、その両立は容易ではない。このような背景のもと、当研究室では求電子性を細かくチューニング可能でかつ生体直交性の高い反応基として NASA/ArNASA (*N*-acyl-*N*-alkyl/aryl sulfonamide) 基を近年開発した<sup>[7]</sup>。特に、ArNASA 基は高い加水分解耐性 ( $t_{1/2} > 180 \text{ h}$ ) と血清安定性を示す一方で、標的タンパク質上の求核性アミノ酸(主に Lys) と十分近接する場合には迅速なラベル化反応が進行する ( $k_2 > 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ )。従って、ArNASA 基は上述の in vivo ラベリングに求められる二つの要件を両立し得るポテンシャルを秘めていると考えられる。そこで本研究では、NASA/ArNASA 基の in vivo 適合性を検証するため下記の実験を行った。

## 2. 培養細胞での PSMA ラベリング

標的タンパク質には、前立腺がんの重要な創薬標的である PSMA (Prostate specific membrane antigen) を選定した。まず既報の PSMA リガンド ( $K_i = 0.37 \text{ nM}$ ) と蛍光色素 (Alexa Fluor647) を、NASA あるいは ArNASA 反応基で連結したラベル化剤を設計・合成した(図 1b)。続いて PSMA を高発現するヒト由来 LNCaP 細胞にラベル化剤を  $0.3 \mu\text{M}$  添加し 2 時間インキュベート後、SDS-PAGE により蛍光標識された PSMA のシグナルを定量した。その結果、安定性が高い (intrinsic reactivity のより低い) ArNASA ラベル化剤が NASA ラベル化剤よりも 1.5 倍高いラベル化効率を示した(図 1c)。ドッキングシミュレーションから、ArNASA ラベ

ル化剤の difluorobenzene 部位がリガンド結合部近傍の疎水性アミノ酸残基と相互作用することで、反応点が求核性アミノ酸 Lys514 に近接したコンフォメーションが安定化する可能性が示唆された。

### 3. In vivo での PSMA ラベリング

次に LNCaP 細胞を皮下移植した担がんマウスに各ラベル化剤 (1 nmol) を尾静脈投与し、24 時間後、腫瘍組織を単離してその破碎液を SDS-PAGE により解析した。その結果、ArNASA ラベル化剤投与マウスにおいてラベル化 PSMA 由来の蛍光シグナルが観察された一方で、NASA ラベル化剤では PSMA に対する蛍光ラベリングはほとんど進行しなかった。このことから、血中投与での in vivo ラベリングには ArNASA 反応基が最適であることが示唆された。さらに ArNASA ラベル化剤投与マウスについて腫瘍以外の各臓器での反応性を評価した結果、腎臓および脾臓に発現するマウス内在性 PSMA についてもラベル化が進行することが確認された (図 1d)。また、各臓器において若干のアルブミンへの非特異的な反応は検出されるが、それ以外のタンパク質にはほとんど反応が進行しなかったことから、ArNASA ラベル化剤は in vivo で非常に選択性高く標的をラベル化することが実証された。

### 4. まとめと今後

本研究では、ArNASA ラベル化剤により生きたマウス個体内において腫瘍に発現するヒト PSMA および腎臓、脾臓に発現する内在性マウス PSMA を高選択的にラベル化することに成功し、リガンド指向性化学が脳以外の生体内環境に適用可能であることを実証した。今後は標的タンパク質のさらなる拡張や共有結合形成を活用した新しい治療法への応用展開を目指す。

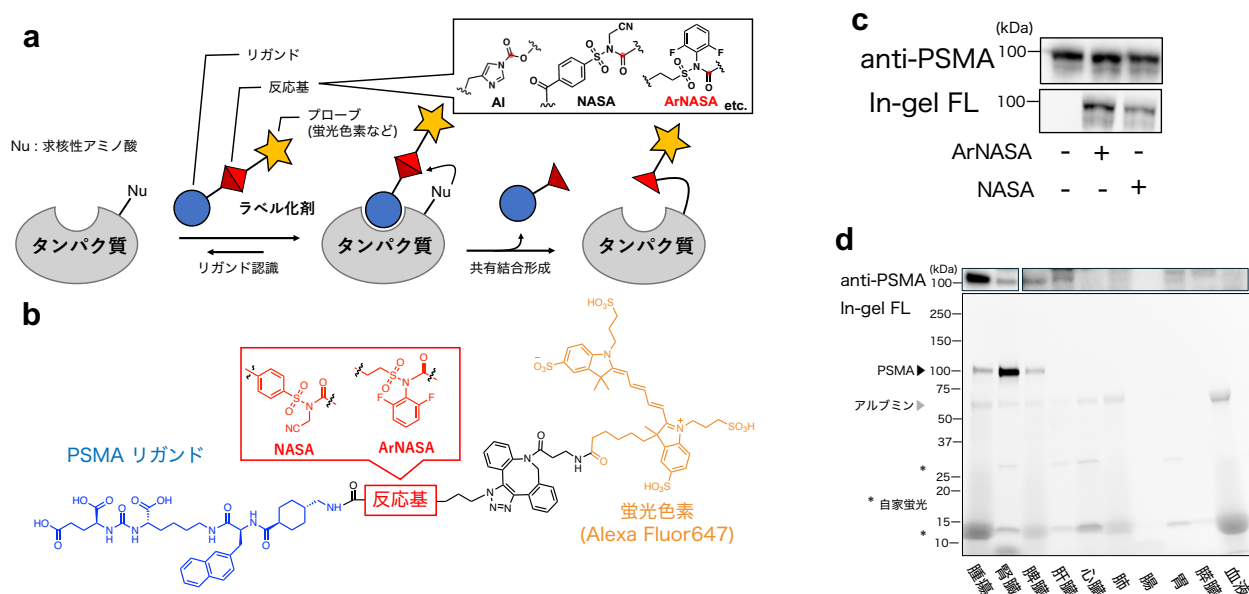
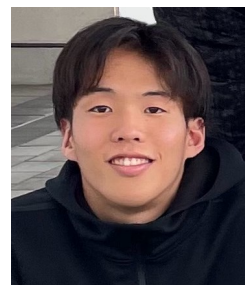


図 1 (a)リガンド指向性化学の概念図 (b)PSMA を標的とした 2 種類のラベル化剤 (c) 各ラベル化剤を添加した培養 LNCaP 細胞における In-gel 蛍光 (d)各組織における ArNASA ラベル化剤反応プロファイル

### 参考文献

- [1] T. Tamura *et al.*, *Nat. Commun.*, **2018**, 9, 1870. [2] S. Tsukiji *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, **2009**, 5, 341. [3] T. Tamura *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141, 2782. [4] H. Nonaka *et al.*, *PNAS*, **2024**, 6, 121. [5] S. Sakamoto *et al.*, *Nat. Synth.*, **2025**, 4, 1128. [6] X.-Y. Cui *et al.*, *Nature*, **2024**, 630, 206. [7] M. Kawano *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145, 26202.

## ホウ素中性子捕捉療法のための CPP 搭載ホウ素 DDS 複合体

<sup>1</sup> 岡山大学大学院ヘルスシステム統合科学研究科<sup>2</sup> 京都大学複合原子力科学研究所附属粒子線腫瘍学研究センター多田貴資<sup>1</sup>・Abdul Basith Fithroni<sup>1</sup>・鈴木実<sup>2</sup>・櫻井良憲<sup>2</sup>・渡邊和則<sup>1</sup>・松浦栄次<sup>1</sup>・大槻高史<sup>1</sup>

**著者紹介：**岡山大学大学院 ヘルスシステム統合科学研究科 生体分子工学研究室 修士 1 年の多田 貴資です。この度は、栄誉あるシンポジウムポスター賞を戴けたことを大変光栄に思います。昨年 9 月に 18 年間続けてきた水泳を引退し、今まで時間のほとんどを費やしてきた水泳に代わり、研究活動が私にとって大きな熱量と時間を注ぐ対象になりました。すぐに成果が得られるものではないこと、しかし試行錯誤を重ねた末にブレイクスルーが訪れ、たまらない満足感と達成感が得られること、またこの経験が大きなモチベーションとなり続けるという点で、研究は水泳と共通していると感じています。研究室に所属してまだ日が浅い私ですが、この受賞を糧に少し自信をつけ、今後もさらに研究に熱中して参ります。本研究を遂行するにあたり、熱心にご指導ご鞭撻を賜りました大槻教授、渡邊准教授、並びに共同研究でお世話になっている松浦教授、KUR の鈴木教授、ならびに関係者の方々にこの場を借りて深く御礼申し上げます。

## 1. 序論

ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) とはホウ素

(<sup>10</sup>B) に熱中性子線を照射することで生じる <sup>4</sup>He 粒子 (α 線) 及び <sup>7</sup>Li 原子核により細胞死を誘導する原理を用いるがん治療法である<sup>1,2,3</sup>。α 粒子と <sup>7</sup>Li 原子核の飛程は、10 μm 以内と短いため、隣接する正常細胞にはあまり影響がない<sup>4</sup>。現在、<sup>10</sup>B-p-boronophenylalanine (<sup>10</sup>B-BPA) というホウ素化合物が BNCT の治療で使用されている。多くのがん細胞ではアミノ酸トランスポーター (LAT-1) の発現が亢進しており、<sup>10</sup>B-BPA は、この LAT-1 を介してがん細胞に蓄積する<sup>5</sup>。一方、<sup>10</sup>B-BPA は、LAT-1 低発現の膵がんや卵巣がんなどに効果的ではないことも知られており、また、送達後に腫瘍内のホウ素濃度が下がりやすいなどの欠点もある<sup>4</sup>。そのため、LAT-1 低発現のものも含めた腫瘍組織に送達するためのドラッグデリバリーシステム (DDS) の開発が必要である。本研究では、生分解性・両親媒性ポリマー (ラクトソーム) からなるナノ粒子に、ホウ素化合物 o-carborane と細胞膜透過ペプチド (CPP) を搭載したラクトソーム複合体 (ホウ素 DDS 複合体) (図 1) を作製し、腫瘍組織に選択的に送達するための DDS の開発を試みた。

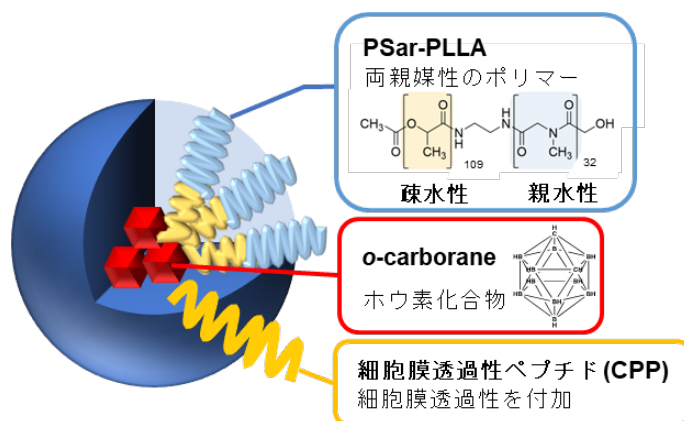


図 1. ラクトソーム複合体の概念図

## 2. ホウ素化合物の選定

BNCT の成功には、標的がん細胞への十分なホウ素量の送達が必要不可欠である。本研究では、疎水性が高く、1 分子内に 10 個のホウ素原子を含む carborane の誘導体をホウ素化合物として使用した。まず、ホウ素化合物である o-carborane と 1,2-dihexyl-o-carborane (diC6-Carb) を別々に搭載したホウ素 DDS 複合体を作製し、ホウ素化合物の選定を行った。その結果、o-carborane の方がラクトソーム粒子に搭載されやすい一方、1,2-dihexyl-o-carborane が粒子内に長時間保持されやすいことが分かった<sup>6</sup>。

### 3. 最適な CPP の検討と In vitro 照射実験によるコロニー形成率の測定

異なる CPP を搭載した o-carborane 内包ラクトソーム複合体をそれぞれ作製し、膵がん由来 AsPC-1 細胞にラクトソーム複合体を導入し、2 時間のインキュベーション後、細胞内のホウ素濃度を発光分光分析装置 (ICP) で測定したところ、8 種類の CPP 候補群の中で L7-Tat を搭載したホウ素 DDS 複合体によるホウ素送達効率が高い傾向があった。続いて、ラクトソーム複合体を導入した AsPC-1 細胞に対して中性子照射を京都大学複合原子力科学研究所において 1 MW の原子炉出力で 0 分、10 分、40 分間行い、コロニーアッセイにて中性子照射による BNCT 効果の評価を行った。その結果、L7-Tat を搭載したホウ素 DDS 複合体で最も高い BNCT 効果が観測された (図 2)。これは、L7-Tat 搭載ホウ素 DDS 複合体の細胞内へのホウ素導入効率が最も高かったことと相関している。

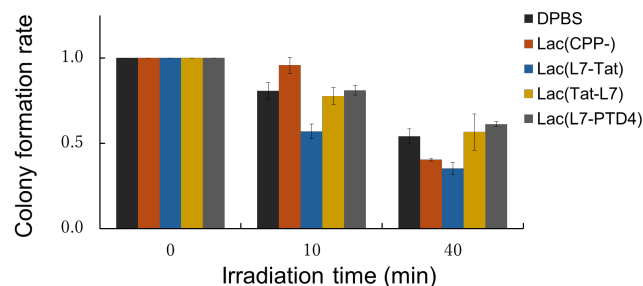


図 2. 相対的コロニー形成率

### 4. In vivo 照射実験による腫瘍増殖率の測定

AsPC-1 細胞を移植したヌードマウスにホウ素 DDS 複合体を全身 (静脈) 投与後中性子照射を行い、照射後 24 日までの腫瘍サイズを測定することで、in vivo における BNCT 効果の評価した。Cold control および Hot control と比較して、Lac(L7-Tat)を投与したマウスで腫瘍の成長が有意に抑制された (図 3、図 4)。また、in vivo において DDS 複合体に搭載するホウ素薬剤は 1,2-dihexyl-o-carborane の方が効果的であることが示唆された (図 4)。

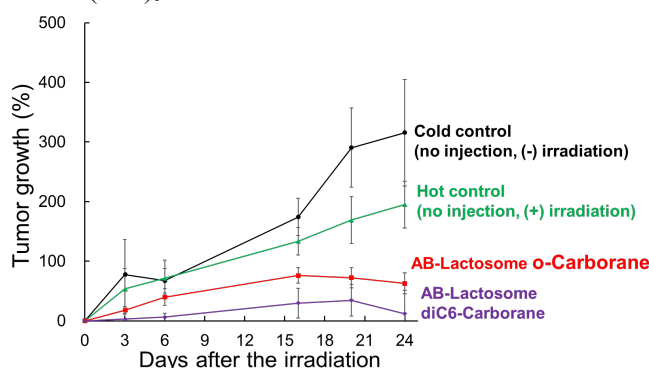


図 3. 中性子線照射後のマウスの腫瘍増殖率 (コントロール、ホウ素化合物の比較)

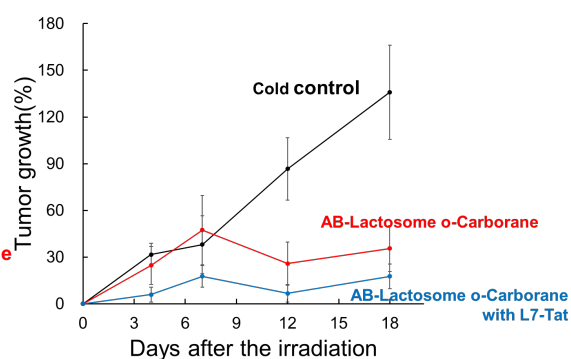


図 4. 中性子線照射後のマウスの腫瘍増殖率 (CPP の有無による BNCT 効果の比較)

### 5. 結論

本研究では、生分解性ポリマー (ラクトソーム) からなるナノ粒子に、ホウ素化合物 o-carborane またはその誘導体と CPP を搭載したラクトソーム複合体 (ホウ素 DDS 複合体) を作製した。これらのホウ素 DDS 複合体を用いて in vitro、in vivo 実験を行った結果、両実験において L7-Tat を搭載したホウ素 DDS 複合体で最も高い BNCT 効果が観測された。現在は腫瘍組織への送達選択性を向上させるため、CPP に代わり、腫瘍ホーミングペプチド (THP) を搭載した複合体の開発を進めている。以上の結果から、当該ホウ素 DDS 複合体は、BNCT によるがん治療へと適用できることが期待される。

### 参考文献

- [1] Suzuki, M., International Journal of Clinical Oncology, 2020, 25, 43–50. [2] Barth, R.F et al. Cancer Commun. 2018, 38, 1–15. [3] Terada S et al., Applied Radiation and Isotopes 2023, 197, 110792. [4] Nakashima Hideki, Yakugaku Zasshi, 2022, 142, 155-164. [5] Wongthai, P et al., Cancer Science, 2015, 106, 279–286. [6] Fithroni, A.B et al., Cells, 2025, 14, 60.



## ぶらり研究室の旅

## 大阪公立大学 大学院理学研究科 生物化学専攻

## 生命化学研究室（中瀬研究室）

## ペプチド化学による細胞機能制御技術の開発

日本化学会 生体機能関連化学部会におきまして、大変お世話になっております。大阪公立大学 大学院理学研究科 生物化学専攻の中瀬生彦と申します。この度はニュースレター「ぶらり研究室の旅」への寄稿におきまして、貴重な機会を頂きましたこと、築地真也先生（名古屋工業大学）をはじめ、編集委員の皆様にご心より感謝申し上げます。僭越ながら、これまでのペプチド化学を中心とした研究活動と、現在主宰しております研究室につきまして紹介させていただきます。

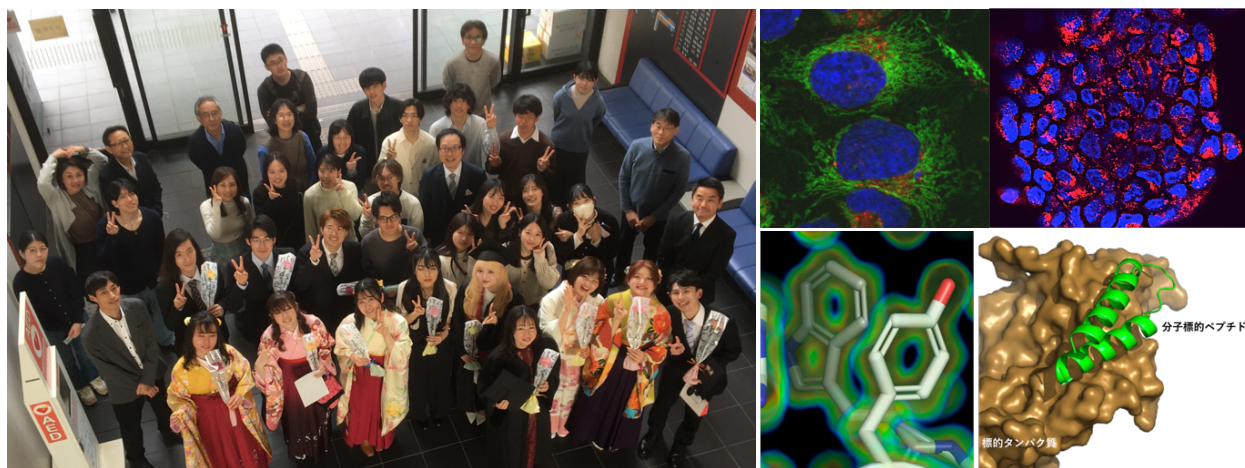
私の研究歴の最初は、岐阜薬科大学薬学部におきまして、学部 4 年生時に合成薬品製造学教室（正木幸雄 先生（教授（当時））、伊藤彰近 先生（助手（当時））、現在は教授として研究室を主宰）でお世話になり、光触媒反応によるシリカ-金属反応場の新規開発とグリーンケミストリーへの応用に関する研究を伊藤先生にご指導頂きました。2000 年 4 月には京都大学大学院薬学研究科に進学し、同 化学研究所 生体機能設計化学の杉浦幸雄 先生（教授（当時））研究室に所属しました。私が進学した当時、杉浦研究室において、二木史朗 先生（助教授（当時））が先駆的に膜透過性ペプチドの研究をスタートされていて、生体膜透過において、配列中のアルギニン残基がとても重要な役割を担うことを発見されました。その世界が注目する二木先生の研究活動の中で、大学院生として直接ご指導を受けることができました。私は、膜透過性アルギニンペプチドの細胞内移行機序の解明（マクロピノサイトシス経路の重要性）や、薬物送達キャリアーとしての応用研究（RNase S の細胞内導入と抗 HIV 活性等）に取り組み、私のその後の歩き方に大きく影響する大変貴重な経験をさせて頂きました。博士学位を取得後、米国ワシントン大学 化学科の佐々木富和 先生（Associate Professor（当時）、現在 Professor）の研究室で 2005 年 4 月から 1 年間、博士研究員としてお世話になり、抗マラリア薬アルテミシニンの抗がん剤応用とタンパク質糖鎖修飾化学の研究に従事しました。2006 年 4 月に、二木先生（2005 年に教授にご昇任され、杉浦先生から研究室のバトンを受け継がれた）の研究室にスタッフとして迎えて頂き、2013 年 3 月までの 7 年間、助手・助教として大変お世話になりました。膜透過性ペプチドの細胞内移行機序（硫酸化多糖の重要性等）やミトコンドリア集積性膜透過ペプチドの開発と薬物送達への応用、担がんマウスにおける膜透過性ペプチドの体内動態可視化等の研究に従事し、加えて膜透過性ペプチド以外にも、人工コイルドコイルペプチドを用いた受容体標的・活性化技術の構築研究等も進めました。

2013 年 4 月より、大阪府立大学（現在の大阪公立大学）ナノ科学・材料研究センターのテニュアトラック教員として独立する機会に恵まれ、2018 年 4 月から同 大学院理学系研究科 生物科学専攻への所属、2022 年 4 月より大阪府立大学と大阪市立大学との統合による大阪公立大学 大学院理学研究科 生物化学専攻のスタート、及び、時を同じくして藤井郁雄 先生（本学 研究推進機構 特任教授）研究室と一緒に、現在に至っております。研究室のスタッフとして、藤原大佑 講師、道上雅孝 講師とともに、ペプチド化学を基盤とした細胞機能制御技術の開発研究を鋭意展開しております（2025 年度は 45 名が研究室に所属）。

2013 年からの独立後は、引き続き膜透過性ペプチドを用いた細胞内への薬物導入における新規技術開発を行っており、光ピンセット法による分子濃縮技術の膜透過性ペプチドへの応用（標的細胞付近にレーザーを当てることで、光圧、及び、発熱対流による分子濃縮が生じ、標的細胞付近で濃縮された膜透過性ペプチドが高効率に細胞内へ取り込まれ、サイトゾル・細胞核内へ移行）や、インクジェットプリンターを活用した狙った細胞群への膜透過性ペプチドの超微量吐出、及び、サイトゾル導入（本技術で、分子量が約 15 万の IgG 抗体といった巨大分子も狙った細胞群のサイトゾルへ導入することが可能）を達成しました。

さらに、生体内ホメオスタシスの維持のみならず、がん等の疾患進展への寄与が世界的に注目されているエクソソーム・マイクロベシクル等の細胞分泌小胞 (extracellular vesicles, EVs) を用いた薬物送達技術に関する研究も進め、膜透過性ペプチドを含む機能性ペプチドを EVs の膜に修飾する化学技術の構築や、上述の人工コイルドコイルペプチドを用いた EVs の受容体標的・活性化技術の開発に成功しています。EVs の細胞内移行機序において、エクソソーム (直径が 30~200 nm) やマイクロベシクル (直径が 400 nm を超える) の EVs がマクロピノサイトーシス誘導で高効率に細胞内へ移行することを明らかにし、この移行機序をペプチド化学に応用することで、マクロピノサイトーシスを誘導するアルギニンペプチドを EVs 膜に簡便に修飾することで、EVs の顕著な細胞内移行促進が可能となっています。本技術の DDS への応用として、ホウ素中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy, BNCT) に用いることで、エクソソームに治療用ホウ素化合物を内包し、マクロピノサイトーシスを誘導するアルギニンペプチドをエクソソーム膜に修飾させることで、グリオーマ細胞に治療用ホウ素化合物が高効率に取り込まれ、熱中性子線による殺がん細胞効果の効率的な誘導にも成功しています。EVs の細胞内移行機序をペプチド化学にフィードバックすることで、より効果的な EVs を基盤とした細胞内導入の技術構築や、EVs の新規機能化に繋がる独創性の高い方法論・技術の獲得に向けて研究展開をさらに続けたいと強く考えています。

そして、藤井特任教授、藤原講師、道上講師を中心とした研究チームは、長年の技術構築で培った Helix-loop-helix (HLH) ペプチドを用いた分子認識技術において、がんを含む様々な疾患への関連分子に対して、抗体に匹敵する高い分子認識能を有する HLH ペプチド (分子量が約 4,000 程度) の獲得を続けています。独自の分子進化技術による分子認識の向上と、構造的な観点からの技術改良によって、抗体のミニチュア化としての大変優れた HLH ペプチドを多数獲得し、タンパク質間相互作用の制御に繋がる実用性の高い機能性ペプチドを生み出しています。さらに細胞膜透過機能を HLH ペプチドに技術導入することで、細胞内においても分子標的が可能なペプチド技術の開発へも果敢に挑戦しています。



以上、ペプチド化学を基盤とした私達の研究チームが取り組む研究内容と研究室について紹介させていただきました。ユニークな基礎研究、そして、領域を超えた異分野融合が可能な波及効果の高い研究を目指して一層の努力をと強く考えています。共同研究を含め、ご興味ございましたら、いつでもお声がけ頂けると大変有難く存じます。また 2026 年 4 月より、新たに大学院創薬科学研究科としてスタート致します。今後とも、皆様からのご指導・ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

連絡先：大阪公立大学 大学院理学研究科 生物化学専攻

e-mail: i-nakase@omu.ac.jp

住所：〒599-8531 大阪府堺市中区学園町 1 番 1 号

電話番号：072-254-9895



## 部 会 行 事

**第 19 回バイオ関連化学シンポジウム開催報告**  
**第 40 回生体機能関連化学シンポジウム・第 28 回バイオテクノロジー部会シンポジウム**

**京都大学大学院 工学研究科 沼田 圭司**  
**京都大学大学院 工学研究科 跡見 晴幸**

第 19 回バイオ関連化学シンポジウム（第 40 回生体機能関連化学シンポジウム・第 28 回バイオテクノロジー部会シンポジウム）が、2025 年 9 月 2 日（火）～4 日（木）に京都大学桂キャンパスで開催されました。沼田圭司（実行委員長）および跡見晴幸（副実行委員長）を中心に、秋吉一成、大庭誠、角五彰、後藤佑樹、佐々木善浩、竹中瑞樹、高橋俊太郎、田村朋則、野中洋、野村幸汰、寺田佳世らが実行委員としてシンポジウムを運営しました。

2023 年度に引き続きオンライン開催を伴わない現地開催のみで学会を開催することができました。実行委員会の先生方および学会運営を手伝ってくれた学生など皆さまに改めて謝意と敬意を表したいと存じます。

第 19 回のシンポジウムの参加登録者は 467 名（一般 239 名、学生 228 名）、一般口頭講演者 71 件、ポスター発表 234 件でした。また、懇親会には合計 170 名（一般 108 名、学生 62 名）の方が参加してくださいました。

招待講演には、浜地 格先生（京都大学 大学院工学研究科）をお招きし「分子夾雑の生命化学」というタイトルでご講演いただきました。遺伝子工学やゲノム編集、バイオ情報科学、AI との連携による新たな研究領域の発展と挑戦をご紹介頂くもので、学生を含む若手研究者を勇気づけると同時に、多くの刺激を受けました。

懇親会では、審査委員長の村上裕先生から講演賞 3 名とポスター賞 9 名を発表し、生体機能関連化学部会長の松浦和則先生とバイオテクノロジー部会長の堀克敏先生から受賞者全員へ賞状と副賞を授与していただきました。受賞者全員から一言ずつコメントをもらい懇親会も大変盛り上がりしました。最後に、次回の第 20 回シンポジウム実行委員長の珠玖仁先生（東北大学大学院工学研究科）に挨拶をしていただき、会を締めました。

第 19 回はこれまで 3 会場に分かれていた会場を 2 会場に集約し、これまでに以上に議論の活性化と多様化を図りました。また桂キャンパス周辺のランチ状況が芳しくないことを逆手にとり、ランチョンセミナーの規模を拡大し、参加者の皆様に有益な情報提供の場を提供できるようにしました。

最後に、本シンポジウムを共催してくださった日本化学会および日本薬学会、繊維学会地球に優しい繊維材料研究委員会、日本ケミカルバイオロジー学会、京都大学大学院工学研究科、日本化学会フロンティア生命化学研究会、日本糖質学会、日本核酸化学会様に、後援を認めてくださった高分子学会、理化学研究所環境資源科学研究センター様に深謝申し上げます。また、ランチョンセミナーを開催していただきました日立ハイテック様、島津製作所様に心より感謝申し上げます。さらに、広告掲載をいただきました Symbiobe 様、ペプチド研究所様、日本化学会ジャーナル編集委員会様、同仁化学学術振興財団様に心より感謝申し上げます。それから、日本化学会の守誠一朗様や関係者の皆様に、この場を借りて感謝申し上げます。第 19 回では、昨年と同様に、当日参加も含めて全て Confit システムのシンポジウムホームページ上での参加登録並びに支払いとしました。これにより昨年に引き続き現金取扱上のトラブルはなく、受付担当の負担を大幅に軽減し、会期中に参加登録者の情報をリアルタイムに把握することもできました。また第 19 回の新しい試みとして、9 月 1 日に開催された若手フォーラムの参加申込・決済も Confit システム上で行い連携して運営の効率化を図りました。参加登録、参加者の管理やプログラム編成が可能である Confit システムの良さを活用し、今後も円滑な運営が行われることを願います。

来年度の第20回バイオ関連化学シンポジウムは、2026(令和8年)年9月10日(木)～12日(土)に、珠玖仁先生方のお世話で東北大学にて開催される予定です。また来年皆様とお会いできることを楽しみにしています。



浜地格 先生(招待講演)



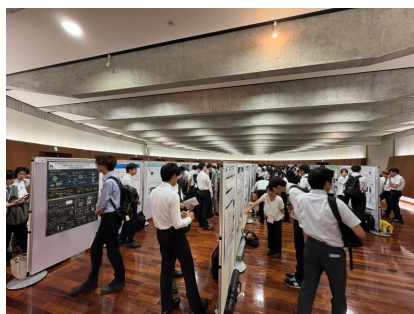
口頭発表 (A 会場)



口頭発表 (B 会場)



ランチョンセミナー (B 会場)



ポスター発表 (A 会場)



講演賞受賞者



ポスター賞受賞者



実行委員

## 部 会 行 事

## 第 19 回バイオ関連化学シンポジウム講演賞・ポスター賞講評

第 40 回生体機能関連化学シンポジウム・第 28 回バイオテクノロジー部会シンポジウム 講演賞・ポスター賞

審査委員長 村上 裕  
名古屋大学大学院工学研究科

今年の第 19 回バイオ関連化学シンポジウムの講演賞には、17 名の若手研究者から応募がありました（昨年度は 20 件、一昨年度は 28 件の応募があったため、今年はやや少なめでした）。講演賞規定に従い、シンポジウム初日に A 会場において、5 名の審査委員による厳正かつ公平な審査が行われました。なお規定により、生体機能関連化学部会もしくはバイオテクノロジー部会に入会してから 1 年以上経過していない方は審査対象外としました（来年度の応募を検討される方はご注意ください）。

審査は以下の 5 項目について行われました。1) 研究テーマの設定・独創性、2) 実験データの質・量・解析、3) 結論の妥当性・新規性、4) 発表および発表資料のわかりやすさ、5) 質疑応答：合計点と審査委員による熱心な議論を経て、下記の 3 名を講演賞受賞者として選出しました。特に「過去の業績をレビューした内容ではなく、最新の研究成果を中心とした発表を審査対象とする」ことを重視し、最終的には審査委員の合議により受賞者を決定しました。受賞者の発表は、プレゼンテーション能力の高さに加え、テーマの新規性・独創性、そして結論を導くための説得力ある豊富なデータが高く評価されました。今回惜しくも選に漏れた方々も研究レベルは非常に高く、ぜひ来年度も講演賞に挑戦していただきたいと思います。

ここで一つ、「過去の業績をレビューした内容ではなく、最新の研究成果を中心とした発表」について補足します。噂によると、前年度に受賞できなかった場合、次年度以降は別テーマで応募しなければならないと誤解している方が少なくないようです。もちろん学会発表である以上、最新のデータを中心に発表していただくのは基本ですが、研究テーマを変更する必要はありません。昨年度までに得られた成果と本年度新たに加えたデータを明確に示していただければ、全体の研究ストーリーとして審査員は適切に評価します。皆さまの積極的な応募をお待ちしています。

なお、バイオ関連化学シンポジウムの懇親会では、松浦部会長より受賞者の方々へ表彰が行われ、一名ずつ受賞コメントをいただきました（図 1）。副賞として贈呈された 1 万円分の図書カードもぜひ有効にご活用ください。応募者の皆さまの素晴らしい研究と講演に敬意を表するとともに、この機会が多くの方手研究者の今後ますますの活躍につながることを願っております。

## 部会講演賞受賞者（敬称略、五十音順）

草野 修平 理化学研究所環境資源科学研究センター・上級研究員

「作物収量を向上させる有機ホウ素化合物の同定とその作用機構解析」

齋藤 雄太郎 東京大学大学院工学系研究科・助教

「多価不飽和脂肪酸固相合成を利用した FFAR1 アゴニスト活性に基づく抗炎症性脂肪酸の開発」

宇佐見 享嗣 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所・特任助教

「酸素挿入型分子ナノカーボンの昆虫内合成」

ポスター賞審査の準備は京都大学の秋葉先生を中心とした生体機能関連化学部会およびバイオテクノロジー部会の若手の会幹事で行い、ポスター発表総数 234 件のうち、同賞にエントリーした 84 名のポスター発表が、両部会に所属する 51 名の若手研究者により厳正に審査されました。優れた発表が多く、1 点差を争う極めて厳しい審査になりました。その結果、明確なプレゼンテーションや質疑応答内容が評価され、上位 11%に相当する 9 名をポスター賞として懇親会にて表彰しました（図 2）。このうち上位 3 名を RSC



(Royal Society of Chemistry) の協賛により Chemical Communications 賞、RSC Chemical Biology 賞、Organic & Biomolecular Chemistry 賞として、2 名を日本化学会の協賛により BCSJ 賞、Chemistry Letters 賞として、2 名を ACS publication の協賛により Biorelevant Chemistry ACS Publications Poster Award として表彰しました。

今後は、さらに研究に邁進し、自身の研究をさらに発展させていただきたいと思います。副賞の 3000 円分の図書カード（および RSC, CSJ からの素敵な副賞）を有効にご活用いただければ幸いです。

#### ポスター賞受賞者（敬称略、五十音順）

宮地 健人（東京科学大学）<sup>\*1</sup>、吉富 文香（名古屋大学）<sup>\*2</sup>、井上 始（名古屋大学）<sup>\*3</sup>、京谷 拓磨（早稲田大学）<sup>\*4</sup>、SHI YAOHONG（東京大学）<sup>\*5</sup>、藤沢 修斗（大阪大学）<sup>\*6</sup>、布施 慶和（慶應義塾大学）<sup>\*6</sup>、杉原大（京都大学）、多田 貴資（岡山大学）

<sup>\*1</sup> Chemical Communications 賞、<sup>\*2</sup> RSC Chemical Biology 賞、<sup>\*3</sup> Organic & Biomolecular Chemistry 賞、<sup>\*4</sup> BCSJ 賞、<sup>\*5</sup> Chemistry Letters 賞、<sup>\*6</sup> Biorelevant Chemistry ACS Publications Poster Award

最後に、講演賞の審査を快くお引き受けいただいた 5 名の先生方、及びタイトなスケジュールの中、ポスター賞の審査を実施していただいた 51 名の若手の先生方のご協力に心より感謝申し上げます。



図 1. 部会講演受賞者および両部会長



図 2. ポスター賞受賞者および両部会長・審査委員長

お知らせ

第 20 回バイオ関連化学シンポジウム

—第 41 回生体機能関連化学シンポジウム・第 29 回バイオテクノロジー部会シンポジウム—

**主催** 日本化学会バイオテクノロジー部会、日本化学会生体機能関連化学部会

**共催** 日本化学会、東北大学工学部

**会期** 2026 (令和 8) 年 9 月 10 日 (木) ~ 12 日 (土)

**会場** 東北大学 青葉山キャンパス (宮城県仙台市)

<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/profile/campus/01/aobayama/>

**発表申込期間・予稿原稿投稿期間** 6 月 1 日 (月) ~ 6 月 19 日 (金)

**参加登録申込期間** 6 月 1 日 (月) ~ 7 月 17 日 (金)

**討論主題** ペプチド・タンパク質・酵素・核酸・糖鎖・脂質・分子認識・超分子・生体モデル系・遺伝子・DDS 等が関連する幅広いバイオ関連化学

**発表形式** 口頭発表・ポスター発表

**申込分類** (1) 分子認識・超分子・モデル系、(2) ペプチド、(3) タンパク質・酵素、(4) 核酸関連、(5) 糖・脂質、(6) メディカルバイオ、(7) 環境バイオ、(8) 分析・計測・センサー・デバイス、(9) DDS

**ポスター発表** 原則 1 日目および 2 日目

**口頭発表** 全日で 15 分間発表・5 分間質疑応答

※口頭発表は原則として 1 研究室 1 件。ただし申込は 2 件までは可。

※優れた発表を対象とした部会講演賞、学生ポスター賞表彰を予定しています。

※シンポジウム web システムとしてアトラス社 Confit を継続して使用する予定です。

※参加登録費および登録方法などについては、追ってお知らせいたします。

**招待講演** William F. DeGrado (Professor, University of California, San Francisco, USA)

**参加登録費** [事前登録] 部会員：一般 9,000 円、学生 4,000 円、非部会員：一般 11,000 円、学生 5,000 円 [当日] 部会員：一般 11,000 円、学生 6,000 円、非部会員：一般 13,000 円、学生 7,000 円

**懇親会** 9 月 11 日 (金) 開催 (詳細は後日シンポジウムのホームページでお知らせ致します)

**実行委員会** 実行委員長 (バイオテクノロジー部会)：珠玖仁 (東北大院工)

副実行委員長 (生体機能関連化学部会)：水上進 (東北大多元研) 実行委員：永次 史 (東北大多元研) / 梅津光央 (東北大院工) / 西澤精一 (東北大院理) / 石川稔 (東北大院生命) / 鬼塚和光 (東北大多元研) / 小和田俊行 (東北大多元研) / 佐藤伸一 (東北大学際研) / 中澤 光 (東北大院工) / 伊野浩介 (東北大院工) / 阿部博弥 (東北大学際研) / 山野雄平 (東北大多元研) / 友重秀介 (東北大院生命) / 大崎脩仁 (東北大学院工)

**問合先** 第 20 回バイオ関連化学シンポジウム事務局 〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-11-605 東北大学大学院工学研究科 珠玖研究室内 E-mail: [bio2026@grp.tohoku.ac.jp](mailto:bio2026@grp.tohoku.ac.jp)



ニュースレター Vol. 40, No. 2 2025年12月30日発行

事務局：101-8307 東京都千代田区神田駿河台1-5, 日本化学会生体機能関連化学部会

The Chemical Society of Japan, 1-5 Kanda-Surugadai, Chiyodaku, Tokyo 101-8307, Japan

URL: <http://seitai.chemistry.or.jp>

E-mail: [seitai@chemistry.or.jp](mailto:seitai@chemistry.or.jp)

編集委員：築地 真也、三浦 佳子、荘司 長三

