

浜地 格

京都大学大学院工学研究科  
教授

生細胞有機化学を基軸としたタンパク質その場解析のための分子技術

## §1. 研究実施体制

### (1)「浜地」グループ

① 研究代表者: 浜地 格 (京都大学大学院工学研究科、教授)

#### ② 研究項目

- ・ 生細胞有機化学反応のレパートリー拡張
- ・ リガンド連結ラベル化剤の拡張
- ・ 分子標的未知タンパク質の同定
- ・ 超分子戦略等による反応性化合物の安定性制御等の検証
- ・ グルタミン酸受容体ケミカルラベル化
- ・ グルタミン酸受容体に対する新規活性化方法の開発

### (2)「柚崎」グループ

① 主たる共同研究者: 柚崎 通介 (慶應義塾大学医学部、教授)

#### ② 研究項目

- ・ グルタミン酸受容体ケミカルラベル化
- ・ グルタミン酸受容体の機能動態解析、生理機能解明
- ・ グルタミン酸受容体の生理機能解明
- ・ グルタミン酸受容体相互作用分子の機能解析

## §2. 研究実施の概要

本研究においては、(1)リガンドの拡張や水中で高い選択性を持った反応の探索、組織や個体での選択的反応実現のための新戦略の開発による「生細胞有機化学」の構築、(2)神経細胞／組織における「生細胞有機化学」の実現と新生命現象の発掘、を両輪として研究を遂行する。(1)に関しては浜地グループが主体的に研究を担い、(2)に関しては(1)で開発されたラベル化剤群を柚崎グループの神経細胞／組織操作技術と組み合わせて遂行する。本年度の成果は以下の通りである。

(1)に関しては、リガンド指向性化学の新たな種類として、スルホニル化を利用した「リガンド指向性 *N*-Sulfonyl Pyridone(LDSP) 化学」を開発した。<sup>ref.1)</sup> 本手法により、細胞表層および細胞内の様々なタンパク質に対して既存のリガンド指向性化学よりも迅速かつ特異的なラベル化が可能となった。また、新たな触媒駆動型タンパク質ラベル化法として、アフィニティ駆動型 Oxime 触媒 (Affinity-Guided Oxime catalyst, AGOX 触媒) を開発した。<sup>ref.2)</sup> AGOX 法は既存の触媒的タンパク質修飾法と比較して、標的選択性・生体適合性が飛躍的に向上し、脳組織に内在的に発現する AMPA 型グルタミン酸受容体の化学修飾にも成功した。また、リガンド指向性化学を利用したバイオセンサー構築にも成功した。下記に述べる AMPA 受容体の蛍光ラベルに関して、Alexa488 色素を修飾した AMPA 受容体の場合は、リガンド結合によりラベル化蛍光が変化することを見出した。この蛍光変化はグルタミン酸に対する競合的なリガンドが結合した際にのみ起こり、競合的なリガンドに対する選択的なバイオセンサーとなることが示唆された。

(2)に関しては、中・短期の記憶に対応するシナプス可塑性に重要な働きを示すグルタミン酸受容体に対する可視化方法の開発および生理機能解明を目指して研究を展開している。本年度は、我々が開発したリガンド指向性アシルイミダゾール化学(LDAI 化学)により、培養神経細胞および脳組織で内在的に発現する AMPA 型グルタミン酸受容体を選択的にケミカルラベル化することに成功した。<sup>ref.3)</sup> この手法では、グルタミン酸受容体機能に影響を与えずに蛍光ラベル化できることため、神経細胞および脳組織における内在性 AMPA 受容体の動態解析が可能となり、その運動性がこれまで知られているよりもかなり低いことを見出した。

### 【代表的な原著論文】

- 1) Matsuo K, Nishikawa Y, Masuda M, Hamachi I, "Live-cell Protein Sulfonylation Based on Proximity-driven *N*-Sulfonyl Pyridone Chemistry", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 57, 659-662, 2018
- 2) Tamura S, Song Z, Amaike K, Lee S, Yin S, Kiyonaka S, Hamachi I, "Affinity-guided oxime chemistry for selective protein acylation in live tissue systems", *J. Am. Chem. Soc.*, 139, 14181-14191, 2017
- 3) Wakayama S, Kiyonaka S, Arai I, Kakegawa W, Matsuda S, Ibata K, Nemoto YL, Kusumi A, Yuzaki M, Hamachi I. "Chemical labeling for visualizing native AMPA receptors in live neurons." *Nature Commun.*, 8, 14850, 2017.