



2023年3月17日

国立大学法人東北大学
科学技術振興機構(JST)

タンパク質のアミノ酸残基選択的ラベル化を 可能とする光駆動型人工金属酵素の開発 働く環境の変化で潜在能力を引き出す

【発表のポイント】

- タンパク質の内部空間に金属錯体^(注1)を導入すること(人工酵素化)で人工金属酵素^(注2)は構築されます。本研究では、金属錯体に潜在している光化学特性を人工酵素化によって引き出した光駆動型人工金属酵素の構築に成功しました。
- タンパク質内外で切り替わる金属錯体の光化学特性を利用し、本来競合しうるタンパク質の二つのアミノ酸残基のラベル化^(注3)を選択的に進行させることができました。
- 光駆動型人工金属酵素のさらなる最適化によって、生命科学や創薬研究において重要な「生体分子の部位特異的な修飾法」の開発に繋がることが期待されます。

【概要】

人類が開発してきた合成金属触媒と自然界で進化してきた生体触媒(酵素)の利点を組み合わせることを目的として人工金属酵素の研究が進められています。人工金属酵素は合成金属触媒(金属錯体)をタンパク質の内部空間に導入することで構築されます。今回、東北大学学際科学フロンティア研究所の岡本泰典助教、佐藤伸一助教、馬淵拓哉助教らは、光駆動型人工金属酵素の開発に成功しました。

本研究の人工金属酵素を構成するルテニウム錯体は非発光性ですが、タンパク質の内部空間に導入されることで発光するようになります。研究チームは、このルテニウム錯体の光化学特性の変化から、ルテニウム錯体単独と人工酵素化されたものでは異なる光触媒能を発揮すると予想しました。実験の結果、ルテニウム錯体単独では光駆動型の一電子移動反応^(注4)を、人工酵素化されたものではエネルギー移動反応^(注5)を優先的に進行させることを見出しました。さらには、この反応タイプの切り替えをタンパク質のアミノ酸残基の選択的ラベル化に応用しました。本成果は、生命科学や創薬研究で重要な技術である「生体分子の部位特異的なラベル化」に人工金属酵素が貢献できる可能性を示すものです。

本研究成果は、米国化学会の専門誌『ACS Catalysis』に2023年3月16日(米国時間)付で掲載予定で、同誌のSupplementary Coverにも選出されています。

【研究の背景】

化学物質 A を化学物質 B へと変換するには、A と B の間にあるエネルギー障壁という山を超える必要があります。「触媒」はこの山の高さを下げることができる物質、すなわち、化学変換反応を速やかに進行させる物質を指します(図1a)。人類はこれまでに多様な化学変換反応を可能とするために、合成金属触媒を開発してきました。一方で、自然界も触媒(酵素)を進化させてきました。「触媒機能を持つタンパク質」である酵素は、生体触媒とも呼ばれます。酵素は様々な分子が入り混じる生物の体内で働くため、①非常に穏和な反応条件で化学変換反応を進行させ、②さらに望まない反応を起こさない(高い反応選択性)という利点を有しています。この生体触媒の利点と合成金属触媒の利点(自然界が見出してこなかった産業的に強力な化学変換)を両取りすることをめざし、これらを組み合わせた人工金属酵素研究が精力的に進められています(図1b)。

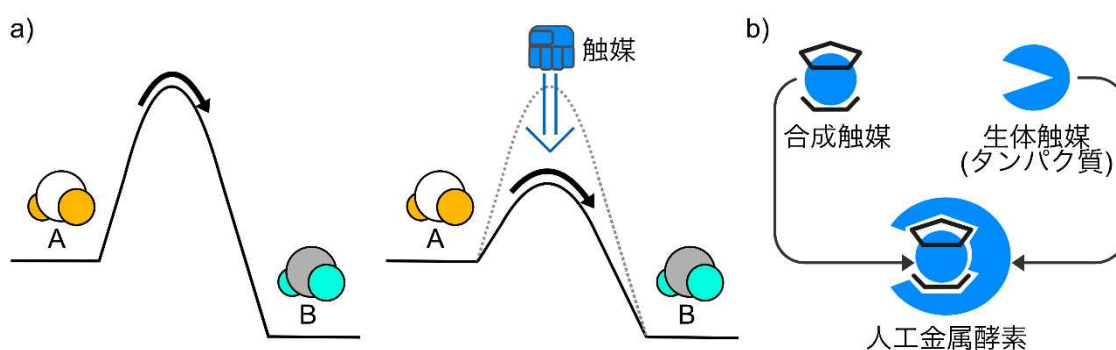


図1: (a) 触媒の役割と(b) 人工金属酵素の構成要素

【本研究の成果】

人工金属酵素はタンパク質の内部空間に合成金属触媒を導入することで構築されます(図1b)。自然界で長い時間をかけて極めて精密にデザインされてきたタンパク質の内部空間を活用することで、その内部に導入された合成金属触媒の機能を増強あるいは改変することができます。近年、クリーンなエネルギー源である光によって化学変換反応を進行させる光駆動型の合成金属触媒の研究が著しい進展を見せていますが、光駆動型の人工金属酵素の研究例は限られています。

今回、東北大学学際科学フロンティア研究所の岡本泰典助教のグループは、光駆動型人工金属酵素の開発に成功しました。岡本助教らは、タンパク質の内部に導入する合成金属触媒として、ルテニウム金属錯体に注目しました(図2a)。以前に岡本助教らはこのルテニウム錯体と同じ配位子^(注1)(dppz、図2a)を持つ光駆動型のイリジウム触媒を開発しています。その際、イリジウム触媒のdppz部位がリボフラビン^(注6)様の反応活性を示す知見を得ていました。リボフラビンは様々な天然酵素(フラボタンパク質)に含まれる小分子であり、結合するタンパク質によって多様な反応性を発揮しています。そこで、類似する反応性を示すdppz部位の化学特性もリボフラビンに結合する

タンパク質 (**riboflavin binding protein = RFBP**)^(注7)によって制御可能になると考えました。ルテニウム錯体単体は水中において発光しませんが、ルテニウム錯体と **RFBP** からなる人工金属酵素は水中において発光特性を示しました(図2b)。当初予想したように、タンパク質が提供する空間によってルテニウム錯体の化学特性を変化させられることがわかりました。同研究所の馬淵拓哉助教のグループとの共同研究によって、人工金属酵素の構造を計算科学的手法に基づき推定したところ、**RFBP** が提供する **dppz** 部位近傍の空間が疎水的であることが示唆されました。水中においてルテニウム錯体が発光しないのは **dppz** 部位近傍が水分子に暴露されていることが原因と考えられており、「疎水的な **RFBP** の内部に **dppz** が導入されたという計算結果」と「人工金属酵素由来の発光が見られた実験結果」は一致します。

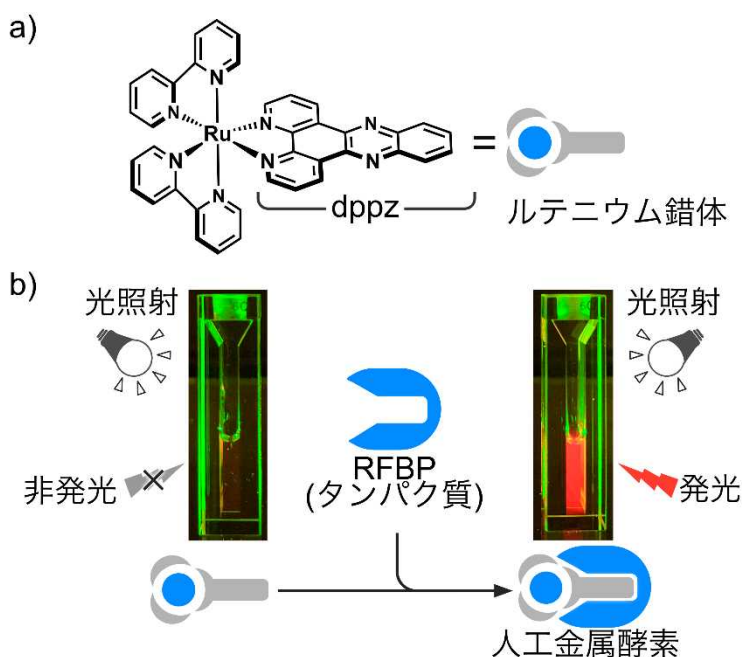


図2: (a) 本研究で利用した合成金属触媒と(b) 人工金属酵素の発光

このルテニウム錯体の光化学特性の変化から、ルテニウム錯体単独とルテニウム錯体と **RFBP** からなる人工金属酵素は、異なる光触媒能を発揮すると予想しました。実際にルテニウム錯体単独では光駆動型の一電子移動反応を、人工酵素化されたものはエネルギー移動反応を優先的に進行させることを見出しました。この反応タイプの切り替えに注目し、同研究所の佐藤伸一助教らとの共同研究によって **MAUra** (1-メチル-4-アシル-ウラゾール) という化学構造を有する化合物(タンパク質のラベル化試薬)によるタンパク質のアミノ酸残基の選択的ラベル化を検討しました。**MAUra** によるチロシン残基のラベル化反応はルテニウム錯体と **MAUra** あるいはチロシン残基間の一電子移動反応を介して進行します(図3、ラベル化反応 A)。一方で、発光特性を示す人工金属酵素を用いた場合では、光励起された人工金属酵素(発光状態の人工金属

酵素)から反応系中に溶存する三重項酸素^(注8)へのエネルギー移動反応が進行し、この過程で生成された一重項酸素^(注8)によって MAUra によるヒスチジン残基のラベル化反応が進行します(図3、ラベル化反応 B)。このようにルテニウム錯体の働く環境を変えることによって、同じルテニウム錯体でも異なる機能(発光特性や触媒能)を引き出すことができます。

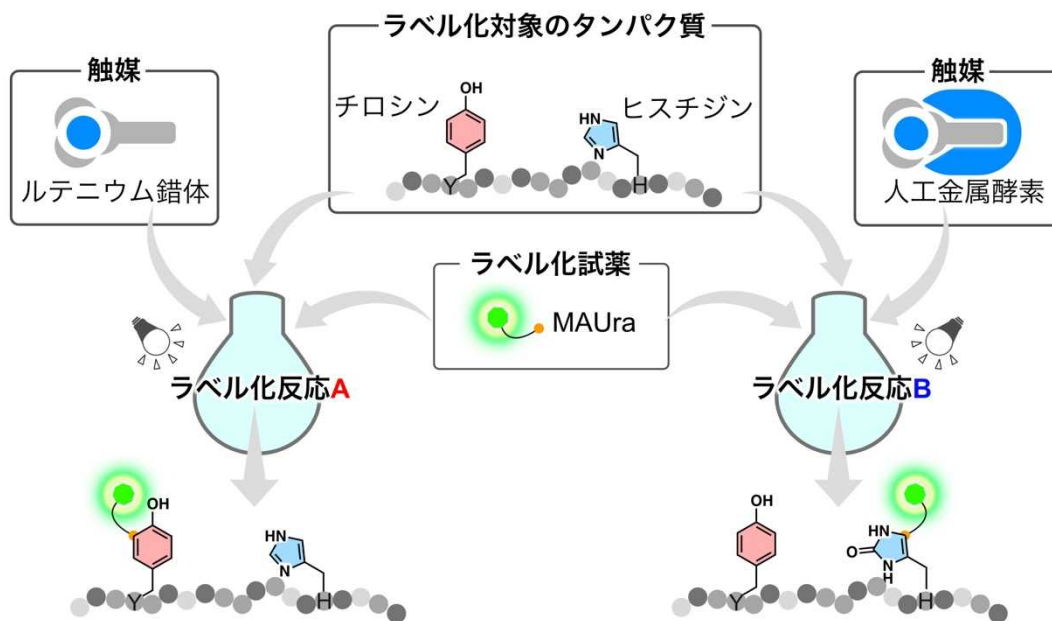


図3:アミノ酸残基選択的の光ラベル化反応

【本研究の意義と展望】

これまでの人工金属酵素の多くが小さな分子の化学変換をめざしていたのに対し、本研究では、巨大分子であるタンパク質も人工金属酵素による化学変換の対象となりうることを示しました。本成果は人工金属酵素の応用可能性を抗体-薬剤複合体 (Antibody-drug conjugate: ADC) 創薬などのファインケミストリー (高付加価値化合物の合成) へと切り拓くものであるといえます。ADC 創薬は、薬物をがん細胞内に直接届けるタイプの治療薬として注目されています。本研究で開発した人工金属酵素は抗体への部位特異的な薬物導入の可能性を示しており、今後の研究によって、ADC 創薬に強力に貢献できる人工金属酵素の開発が期待できます。

岡本助教は「これまでに私たちは人工金属酵素が細胞内で利用可能であることを示してきており、本研究で示した光駆動型人工金属酵素というコンセプトは、細胞機能の光触媒制御に立脚する生命現象の理解や薬剤開発に繋がるのが予想できます。加えて、本成果は、FRIS CoRE^(注9)という協働的研究環境を舞台に生み出されたものであり、その有用性を実証するものであると考えます」と成果の意義と展望、また、そのような研究環境配備の重要性を強調します。

【用語説明】

注1. 金属錯体と配位子

金属錯体とは金属イオンとそれに結合した分子(配位子)の複合体を指す。

注2. 人工金属酵素

人工金属酵素は①タンパク質の内部空間に人工的に造られた金属錯体を導入すること、あるいは②タンパク質の内部空間に金属イオンの結合部位を人為的に設計することで構築され、物質変換能を示す。

注3. タンパク質のラベル化

タンパク質を人工的な化学物質で修飾すること。本研究では佐藤らが以前に開発した MAUra (1-メチル-4-アシル-ウラゾール) という化学構造を有する物質を光駆動型人工金属酵素によってターゲットとするタンパク質に修飾した(図3参照)。

注4. 一電子移動反応

2つの化合物間で一電子の移動が起こる反応。

注5. エネルギー移動反応

分子のとりうる状態のうち、最もエネルギーの低い状態を基底状態といい、それよりもエネルギー的に高い状態を励起状態という。エネルギー移動反応は、励起状態にある分子から、それよりもエネルギー的に低い状態にある別の分子へとエネルギーが移動する反応を指す。

注6. リボフラビン

様々な天然の酵素に含まれる小分子(図4a)で、提供されるタンパク質の内部空間の違いによって多様な化学変換能を発揮する。図4b に示したイリジウム錯体の dppz 部位と類似する反応性を示す。

注7. RFBP (riboflavin-binding protein)

リボフラビンに強固に結合するタンパク質(図4c)。

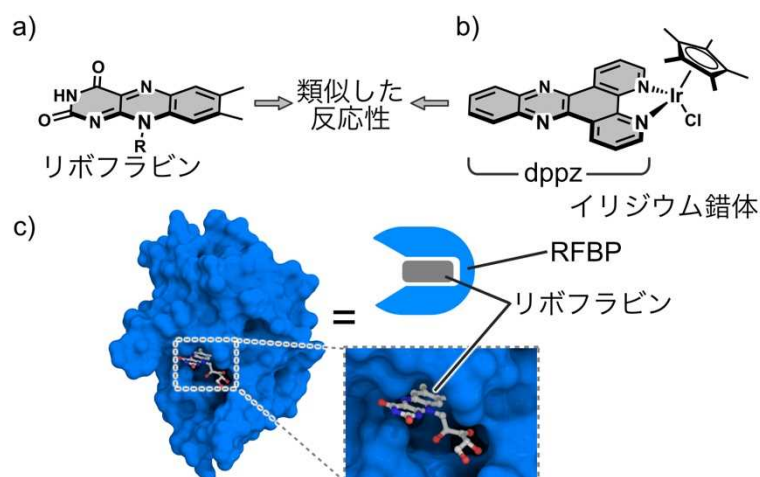


図4: (a)リボフラビンの部分構造、(b)光駆動型イリジウム錯体、(c) リボフラビン結合型 RFBP の結晶構造

注8. 三重項酸素と一重項酸素

通常、酸素分子は安定な三重項状態にあるが、励起(注7を参照)されると、一重項と呼ばれる状態になる。三重項酸素と比べて、一重項酸素は高い化学反応性を有し、不安定である。

注9. FRIS CoRE

若手研究者の独立支援および異分野交流を加速する仕組みとして、学際科学フロンティア研究所が推し進める「様々な分野の基盤的かつ日常的な実験機器を自由に利用可能な研究環境」のこと。(ウェブサイト: https://www.fris.tohoku.ac.jp/fris_core/)

【本研究への支援】

本研究は、以下の支援を受けて実施されました。

- 国立研究開発法人科学技術振興機構(JST) ACT-X JPMJAX1913 研究領域: 生命と化学「人工金属酵素による細胞内触媒反応系の開発(研究代表者:岡本泰典)」
- 日本学術振興会(JSPP) 科学研究費補助金 JP20K15393、JP21H05118(研究代表者:岡本泰典)
- 国立研究開発法人科学技術振興機構(JST) 創発的研究支援事業 JPMJFR2005 阿部パネル「生物活性分子のプローブ化不要な結合タンパク質網羅的同定(研究代表者:佐藤伸一)」
- 日本学術振興会(JSPP) 科学研究費補助金 JP21H05503(研究代表者:佐藤伸一)
- 国立研究開発法人科学技術振興機構(JST) 創発的研究支援事業 JPMJFR212H 井村パネル「ナノ空間反応性イオン輸送制御システムの創出(研

究代表者:馬淵拓哉)」

- 文部科学省世界で活躍できる研究者戦略育成事業「学際融合グローバル研究者育成東北イニシアティブ(TI-FRIS)」(岡本泰典、馬淵拓哉)

【論文情報】

雑誌名:ACS Catalysis

論文タイトル:Switching Type I/Type II Reactions by Turning a Photoredox Catalyst into a Photo-Driven Artificial Metalloenzyme

著者:Yasunori Okamoto*, Takuya Mabuchi, Keita Nakane, Akiko Ueno, Shinichi Sato (*責任著者)

DOI: 10.1021/acscatal.2c05946

URL: <https://doi.org/10.1021/acscatal.2c05946>

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東北大学学際科学フロンティア研究所
助教 岡本 泰典 (おかもと やすのり)
電話 : 022-795-5264
E-mail : yasunori.okamoto[at]tohoku.ac.jp

<JST 事業に関すること>

科学技術振興機構
戦略研究推進部先進融合研究グループ
宇佐見 健 (うさみ たけし)
電話 : 03-6380-9130
E-mail : act-x[at]jst.go.jp

<報道に関すること>

東北大学学際科学フロンティア研究所
特任准教授 藤原 英明 (ふじわら ひであき)
電話 : 022-795-5259
E-mail : hideaki[at]fris.tohoku.ac.jp

科学技術振興機構広報課
電話 : 03-5214-8404
E-mail : jstkoho[at]jst.go.jp