慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	チロシン、トリプトファンを標的とした生体高分子の化学修飾法の開発
Sub Title	Development of bioconjugation targeting tyrosine and tryptophan in peptides and proteins
Author	花屋, 賢悟(Hanaya, Kengo)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	タンパク質の特定のアミノ酸残基上に蛍光分子や生理活性化合物などの人工分子を結合する有機合成反応（化学修飾法）の開発は、ケミカルバイオロジーの基礎研究や医薬品創製において重要である。タンパク質表面に出現する頻度が低いアミノ酸を標的にすれば、人工分子を結合する位置、数の制御が容易である。そこで、本研究では光触媒またはヨウ素を用いる有機合成反応を活用し、疎水性アミノ酸のチロシンやトリプトファンを化学修飾する手法の開発を目指した。 光触媒は、室温下、紫外または可視光照射により励起されると、共存する有機化合物を酸化または還元しフリーラジカルが発生する。フリーラジカルは、生体内でも種々の代謝反応に関与しており、水溶液中における有機合成反応にも適用できる可能性が高い。ペプチド、ボロン酸、光触媒であるイリジウム錯体[Ir{dFCF3ppy}2(bpy)]PF6の混合液に光照射すると、ボロン酸が分解してフリーラジカルが発生し、トリプトファンの側鎖インドール環と反応することを期待した。しかし、光照射するとボロン酸の有無にかかわらずペプチドが分解してしまい、生成物は得られなかった。 次に、ヨウ素を用いたアゾール類によるトリプトファンの化学修飾を検討した。アセチルトリプトファンに、メタノールと水の混合溶媒中、ヨウ素存在下、種々のアゾール類を作用させた。ベンゾトリアゾールを用いると、反応は30分以内に完結し、生成物が得られた。本反応は、ペプチド中のトリプトファンの化学修飾にも適用可能であった。しかし、反応条件下、生成物の分解が併発することがわかっている。過剰のヨウ素と水が生成物の分解に関与していると推測されるが、分解物の構造および分解の反応機構は不明である。今後、反応機構を考察し、反応条件を改良する必要がある。 Post-translational chemical protein modification has attracted increasing attention on account of applications for chemical biology (fluorescent imaging etc.) and pharmaceuticals such as antibody-drug conjugate (ADC). Tyrosine and tryptophan have been recognized as reasonable platforms for site-selective introduction of artificial molecules because of their low abundance on protein surface and characteristic reactivity of aromatic side chains. This research aimed to develop the chemical modification method of these aromatic amino acids. Photoredox catalysis can generate free radicals via photoirradiation even in an aqueous solution. We expected oxidative modification of tyrosine or tryptophan using iridium-based photoredox catalyst [Ir{dFCF3ppy}2(bpy)]PF6 and boronic acids. However, it was found that tyrosine or tryptophan-containing peptides were decomposed by photoirradiation for 30 min in the presence of the iridium complex. The decomposition was independent of boronic acids. Then, our focus moved to iodine-mediated C-N coupling of tryptophan using azoles. Among azoles we tested, benzotriazole gave the desired C-N coupling products in the best yield with the fastest reaction kinetics in the both case of acetyl tryptophan and a tryptophan-containing peptide. However, the decomposition of the desired products was competitive under the reaction conditions. Further investigation of the decomposition mechanism and the development of the reaction conditions are necessary.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200124

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2021 年 4 月 10 日

2020 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	専任講師	補助額	300 （A） 千円
	氏名	花屋 賢悟	氏名（英語）	Kengo Hanaya		

研究課題（日本語）

チロシン、トリプトファンを標的とした生体高分子の化学修飾法の開発

研究課題（英訳）

Development of bioconjugation targeting tyrosine and tryptophan in peptides and proteins

１．研究成果実績の概要

タンパク質の特定のアミノ酸残基上に蛍光分子や生理活性化合物などの人工分子を結合する有機合成反応（化学修飾法）の開発は、ケミカルバイオロジーの基礎研究や医薬品創製において重要である。タンパク質表面に出現する頻度が低いアミノ酸を標的にすれば、人工分子を結合する位置、数の制御が容易である。そこで、本研究では光触媒またはヨウ素を用いる有機合成反応を活用し、疎水性アミノ酸のチロシンやトリプトファンを化学修飾する手法の開発を目指した。
光触媒は、室温下、紫外または可視光照射により励起されると、共存する有機化合物を酸化または還元しフリーラジカルが発生する。フリーラジカルは、生体内でも種々の代謝反応に関与しており、水溶液中における有機合成反応にも適用できる可能性が高い。ペプチド、ボロン酸、光触媒であるイリジウム錯体[Ir{dFCF3ppy}2(bpy)]PF6 の混合液に光照射すると、ボロン酸が分解してフリーラジカルが発生し、トリプトファンの側鎖インドール環と反応することを期待した。しかし、光照射するとボロン酸の有無にかかわらずペプチドが分解してしまい、生成物は得られなかった。
次に、ヨウ素を用いたアゾール類によるトリプトファンの化学修飾を検討した。アセチルトリプトファンに、メタノールと水の混合溶媒中、ヨウ素存在下、種々のアゾール類を作用させた。ベンゾトリアゾールを用いると、反応は 30 分以内に完結し、生成物が得られた。本反応は、ペプチド中のトリプトファンの化学修飾にも適用可能であった。しかし、反応条件下、生成物の分解が併発することがわかっている。過剰のヨウ素と水が生成物の分解に関与していると推測されるが、分解物の構造および分解の反応機構は不明である。今後、反応機構を考察し、反応条件を改良する必要がある。

２．研究成果実績の概要（英訳）

Post-translational chemical protein modification has attracted increasing attention on account of applications for chemical biology (fluorescent imaging etc.) and pharmaceuticals such as antibody-drug conjugate (ADC). Tyrosine and tryptophan have been recognized as reasonable platforms for site-selective introduction of artificial molecules because of their low abundance on protein surface and characteristic reactivity of aromatic side chains. This research aimed to develop the chemical modification method of these aromatic amino acids.
Photoredox catalysis can generate free radicals via photoirradiation even in an aqueous solution. We expected oxidative modification of tyrosine or tryptophan using iridium-based photoredox catalyst [Ir{dFCF3ppy}2(bpy)]PF6 and boronic acids. However, it was found that tyrosine or tryptophan-containing peptides were decomposed by photoirradiation for 30 min in the presence of the iridium complex. The decomposition was independent of boronic acids.
Then, our focus moved to iodine-mediated C-N coupling of tryptophan using azoles. Among azoles we tested, benzotriazole gave the desired C-N coupling products in the best yield with the fastest reaction kinetics in the both case of acetyl tryptophan and a tryptophan-containing peptide. However, the decomposition of the desired products was competitive under the reaction conditions. Further investigation of the decomposition mechanism and the development of the reaction conditions are necessary.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）