

Academic Program [Oral A] | 17. Biofunctional Chemistry, Biotechnology : Oral A

📅 Tue. Mar 19, 2024 9:00 AM - 11:20 AM JST | Tue. Mar 19, 2024 12:00 AM - 2:20 AM UTC 🏢 H931(931, Bldg. 9 [3F])

[H931-2am] 17. Biofunctional Chemistry, Biotechnology

Chair: Seiji Sakamoto, Takayuki Miki

🇯🇵 Japanese

9:00 AM - 9:10 AM JST | 12:00 AM - 12:10 AM UTC

[H931-2am-01]

Selective Fluorescent Labeling of Microorganisms using Artificial Siderophore-Metal Complexes

○Reon Mori¹, Tomohiko Inomata¹, Tomohiro Ozawa¹, Hideki Masuda² (1. Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology, 2. Aichi Institute of Technology)

🇯🇵 Japanese

9:10 AM - 9:20 AM JST | 12:10 AM - 12:20 AM UTC

[H931-2am-02]

Functional evaluation of an electrophilic focused library to identify a covalent inhibitor against intrinsically disordered circadian clock transcription factors

○Kazuya Yamanaka¹, Miki Imanishi², Junko Ohkanda¹ (1. Shinshu university, 2. Kyoto university)

🇯🇵 Japanese

9:20 AM - 9:30 AM JST | 12:20 AM - 12:30 AM UTC

[H931-2am-03]

Development of lysine-selective chemical reaction for covalent targeting

○Yudai Tanaka¹, Atsuya Tanigawa¹, Naoki Zenmyo¹, Ryo Tetsukawa², Shunsuke Kita³, Katsumi Maenaka³, Naoya Shindo^{1,3}, Akio Ojida¹ (1. Grad. Sch. Pharm. Sci., Kyushu Univ., 2. Faculty of Pharm. Sci., Kyushu Univ., 3. Grad. Sch. Pharm. Sci., Hokkaido Univ.)

🇬🇧 English

9:30 AM - 9:40 AM JST | 12:30 AM - 12:40 AM UTC

[H931-2am-04]

PhoxID light-driven proximity labeling (1): Application to GPCR interactome mapping

○Fatima Yuri Tanimura Valor¹, Mikiko Takato¹, Tomonori Tamura¹, Itaru Hamachi¹ (1. Kyoto University)

9:40 AM - 9:50 AM JST | 12:40 AM - 12:50 AM UTC

Break

🇯🇵 Japanese

9:50 AM - 10:00 AM JST | 12:50 AM - 1:00 AM UTC

[H931-2am-05]

PhoxID light-driven proximity labeling (2): Application to phospholipid proximity proteomics

○Naoki Sugimoto¹, Tomonori Tamura¹, Itaru Hamachi¹ (1. Kyoto University)

🇯🇵 Japanese

10:00 AM - 10:10 AM JST | 1:00 AM - 1:10 AM UTC

[H931-2am-06]

Investigation of the biological significance of [4+4] cycloaddition occurring in cancer cell

○Takuma Sekiguchi¹, Hiromasa Yoshioka², Ambara Rachmat Pradipta¹, Katsunori Tanaka^{1,2} (1. Tokyo Institute of Technology, School of Materials and Chemical Technology, Department of Chemical Science and Engineering, 2. RIKEN Cluster for Pioneering Research, Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory)

◆ Japanese

10:10 AM - 10:20 AM JST | 1:10 AM - 1:20 AM UTC

[H931-2am-07]

Intracellular polymer synthesis utilizing [4+4] cycloaddition reaction

○Shinji Kawaguchi¹, Akihiro Ishiwata², Ambara Rachmat Pradipta¹, Katsunori Tanaka^{1,2} (1. Tokyo Institute of Technology, School of Materials and Chemical Technology, Department of Chemical Science and Engineering, 2. RIKEN Cluster for Pioneering Research, Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory)

◆ Japanese

10:20 AM - 10:30 AM JST | 1:20 AM - 1:30 AM UTC

[H931-2am-08]

Development of prodrug based on Diels-Alder reaction in cancer cells

○Yuki Masaki¹, Kazuki Terashima¹, Ambara Rachmat Pradipta¹, Katsunori Tanaka^{1,2} (1. Tokyo Institute of Technology, School of Materials and Chemical Technology, Department of Chemical Science and Engineering, 2. RIKEN Cluster for Pioneering Research, Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory)

10:30 AM - 10:40 AM JST | 1:30 AM - 1:40 AM UTC

Break

◆ Japanese

10:40 AM - 10:50 AM JST | 1:40 AM - 1:50 AM UTC

[H931-2am-09]

Transforming cancer metabolites into anticancer drugs with biocompatible transition metal catalysts

○Masayuki Kawai¹, Thung-che Chang¹, Ambara Rachmat Pradipta¹, Katsunori Tanaka^{1,2} (1. Tokyo Institute of Technology, School of Materials and Chemical Technology, Department of Chemical Science and Engineering, 2. RIKEN Cluster for Pioneering Research, Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory)

◆ Japanese

10:50 AM - 11:00 AM JST | 1:50 AM - 2:00 AM UTC

[H931-2am-10]

Structure-activity relationship study of a protein-protein interaction-modulating molecular nanocarbon

○Minh Nghia Le¹, Ryuto Kojo¹, Hayato Yamada^{1,2}, Kazuma Amaike¹, Kenichiro Itami^{1,3} (1. Graduate School of Science, Nagoya University, 2. Integrated Research Consortium on Chemical Sciences, Nagoya University, 3. Institute of Transformative Bio-Molecules, Nagoya University)

◆ Japanese

11:00 AM - 11:10 AM JST | 2:00 AM - 2:10 AM UTC

[H931-2am-11]

Analysis of the dynamics of water-soluble nanobelt in mammalian cell

○Hideya Kono¹, Konstantin Günther¹, Hiroki Shudo¹, Kazuma Amaike¹, Akiko Yagi¹, Kenichiro Itami¹ (1. Nagoya University)

🇬🇧 English

11:10 AM - 11:20 AM JST | 2:10 AM - 2:20 AM UTC

[H931-2am-12]

Giant Extracellular Vesicles Formed through the Interaction of Living Cells with Covalent Organic Frameworks Decorated with Guanidinium Moieties

○Young Kyoung Hong¹, Hyuna Jo¹, Takayuki Miki¹, Takuzo Aida¹ (1. The Univ. of Tokyo)

人工シデロフォア金属錯体を用いた微生物の蛍光標識

(名工大院工¹、愛工大工²) ○森 玲央¹、猪股智彦¹、小澤智宏¹、増田秀樹²
 Selective Fluorescent Labeling of Microorganisms using Artificial Siderophore-Metal Complexes (¹Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology, ²Faculty of Engineering, Aichi Institute of Technology) ○Reon Mori, Tomohiko Inomata, Tomohiro Ozawa, Hideki Masuda

Siderophores are small molecules secreted by microbes for iron uptake, and their structure is recognized and selectively taken up by receptors on the surface of the microbes (**Fig. 1a**). The selective uptake mechanism of siderophores has potential applications in microbial sensing and drug delivery. We have studied the detection of microbes using artificial siderophores which are functional model compounds that simplify the structure of natural siderophores and allow for synthetic structural tuning. In this study, we synthesized fluorescent probes consisting of fluorescein and metal ions conjugated to artificial siderophores¹⁾, which we previously reported for selective fluorescent labeling of microbes (**Fig. 1b**), and evaluated their ability to selectively label microbes (*E. coli*, *B. subtilis*, and *M. flavescens*). As a result, we succeeded in labeling microorganisms by the selectivity of artificial siderophores using synthesized fluorescent probes.

Keywords : Artificial Siderophore, Fluorescent Labeling, Selective Bacteria Detection

シデロフォアとは微生物が鉄イオンを摂取するために分泌する小分子であり、鉄イオンと錯形成したシデロフォアは、微生物表面にあるレセプターによって構造を認識され、選択的に取り込まれる (**Fig.1a**)。このシデロフォアの選択的な取り込み機構は、微生物センシングや、ドラッグデリバリーなどの技術への応用が期待されている。我々はこれまでに、天然のシデロフォアの構造を簡略化し、合成的に構造のチューニングを可能にした機能モデル化合物である人工シデロフォアを利用した微生物の検出に関する研究を行ってきた。本研究では、微生物の (a) 選択的蛍光標識を行うために我々が以前に報告した人工シデロフォア¹⁾にフルオレセインと金属イオンを結合した蛍光プローブを合成し (**Fig.1b**)、微生物 (*E. coli*, *B. subtilis* 及び *M. flavescens*) に対する選択的蛍光標識能を評価した。その結果、合成した蛍光プローブを利用することで人工 (b) シデロフォアの選択性に則って微生物を標識することに成功した。

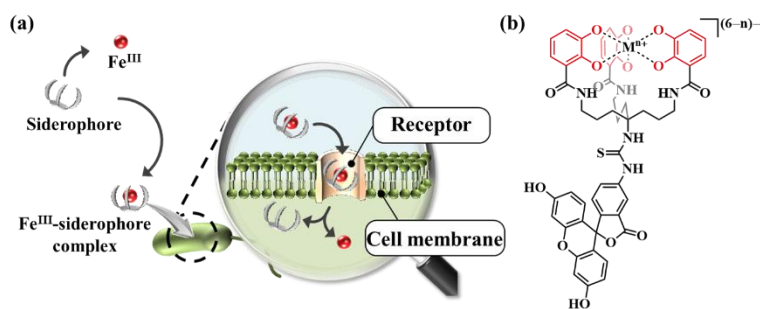


Fig. 1. (a) Schematic view of Fe^{III} ion uptake of microorganisms using artificial siderophore. (b) Schematic structure of artificial siderophore-metal complex connecting fluorescein.

- 1) T. Inomata *et al.*, *Dalton Trans.*, **2013**, 42, 16043 -16048.; T. Inomata *et al.*, *Inorg. Chem.*, **2023**, 62, 40, 16362 -16377.

親電子性低分子ライブラリによる天然変性概日時計転写因子を標的としたコバレント阻害剤の探索

(信州大農¹・京大化研²) ○山中 和也¹・今西 未来²・大神田淳子¹

Functional evaluation of an electrophilic focused library to identify a covalent inhibitor against intrinsically disordered circadian clock transcription factors (¹*Institution of Agriculture, Shinshu university*, ²*Institution for chemical research, Kyoto university*) ○Kazuya Yamanaka¹, Miki Imanishi², Junko Ohkanda¹

BMAL1/CLOCK are the highly disordered circadian transcription activators and their dysregulation is implicated in various diseases, such as cancer and neurodegenerative diseases. We previously identified a covalent inhibitor for the hetero dimerization of BMAL1 and CLOCK but the chemical stability and selectivity remains to be addressed^[1]. In this study, we synthesized a focused library of small compounds comprising an electrophilic group, such as acrylamide and chloroacetamide, which was evaluated for the inhibitory activity by fluorescence polarization assay. As a result, the chloroacetamide derivative of 3,5-bis(trifluoromethyl) aniline (**1**) was found to be potent, whereas structurally related *p*-trifluoromethyl aniline derivative (**2**) was inactive. Interestingly, **1** and **2** were found to exhibit similar reactivity for a thiol compound with a kinetic constant of 4.6 and $4.5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$, respectively, clearly indicating that **1** inhibits BMAL1/CLOCK interaction in a structure-dependent manner^[2]. These results highlight potential for development of covalent inhibitors that target transiently generated structural features of intrinsically disordered proteins.

Keyword : *Intrinsically disordered region; Circadian clock transcription factors; Electrophilicity compounds library; Covalent inhibitor; Protein-protein interactions*

生物の概日周期を司る転写因子 BMAL1/CLOCK は配列の約 4 割が天然変性領域 (IDR)であることが知られている。このタンパク質に起因する概日周期の変調は生活習慣病や癌、神経変性疾患の原因となることが報告されており、重要な創薬標的である。既報において我々は、BMAL1/CLOCK の阻害剤の開発を目指し、蛍光偏光変化を指標とする化合物スクリーニングにより BMAL1/CLOCK の二量化を抑制する共有結合性化合物を同定した^[1]。本研究では新たな共有結合性阻害剤の開発を目指し、種々のアミンに対し親電子反応基であるアクリルアミドもしくはクロロアセトアミドを導入した親電子反応性小分子ライブラリを合成し、その評価を行った。その結果、3,5-ビストリフルオロメチルアニリンのクロロアセトアミド誘導体(**1**)が明瞭な二量体形成抑制活性を示した。一方、**1**とその構造類縁体であるパラトリフルオロメチルアニリンのクロロアセトアミド誘導体(**2**)は不活性であった。この結果を踏まえ、**1**と**2**のチオールに対する反応速度定数 k をエルマン試薬による吸光度を指標とした評価系で測定し、比較した。その結果、**1**と**2**の反応速度定数はほぼ同等(**1**: $4.6 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$, **2**: $4.5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$)であった。このことから**1**はBMAL1/CLOCKと共有結合を形成し、何らかの構造依存的な作用機序により阻害活性を示していることが示唆された^[2]。以上の結果は、IDRの過渡的な構造特性を認識する共有結合性阻害剤の開発が可能であることを示していると考えられる。

[1] Y. Hosoya, et al., *Chem. Comm.* **2020**, 56, 11203. [2] K. Yamanaka, et al., *Bioorg Med. Chem. Lett.* **2023**, in press.

リジン選択的な共有結合修飾を指向した新規反応化学の開発

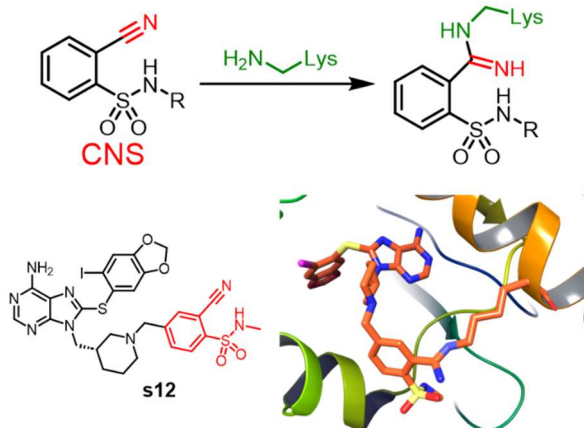
(九大院薬¹・九大薬²・北大院薬³) ○田中 雄大¹・谷川 敦哉¹・善明 直輝¹・鉄川 涼²・喜多 俊介³・前仲 勝美³・進藤 直哉^{1,3}・王子田 彰夫¹

Development of lysine-selective chemical reaction for covalent targeting (¹Grad. Sch. Pharm. Sci., Kyushu Univ., ²Faculty of Pharm. Sci., Kyushu Univ., ³Grad. Sch. Pharm. Sci., Hokkaido Univ.) ○Yudai Tanaka,¹ Atsuya Tanigawa,¹ Naoki Zenmyo¹, Ryo Tetsukawa², Shunsuke Kita³, Katsumi Maenaka³, Naoya Shindo^{1,3}, Akio Ojida¹

Covalent drugs exert potent and sustained pharmacological efficacy through a covalent engagement with target protein. While cysteine-targeting covalent drug discovery has been a powerful strategy, number of druggable proteins is limited due to the low abundance of cysteine residues in proteome. Covalent targeting of lysines would greatly expand the scope of covalently druggable proteins. In this study, we report 2-cyanoarenesulfonamide (CNS) as a novel amine-reactive electrophile. CNS shows highly chemoselective and tunable reactivity toward amine. We designed CNS-based covalent inhibitors targeting Lys58 of heat shock protein 90 (Hsp90). In the in-gel ABPP experiment, CNS-based probe successfully labeled Hsp90 protein in live SK-BR-3 cells with the higher efficacy and selectivity compared to the reported sulfonyl fluoride (SF)-based compound.

Keywords : covalent drugs, lysine, Hsp90

コバレントドラッグは標的タンパク質の求核性アミノ酸残基と共有結合を形成することで、従来の可逆的薬剤よりも強く持続的な薬効を示す。現在のコバレントドラッグ創薬の多くはシステインを標的としているが、システイン残基はプロテオーム中の存在割合が低く、標的可能なタンパク質は限定される。一方で豊富に存在するリジン残基を標的とすることで、コバレントドラッグで標的可能なタンパク質の大幅な拡大が期待できる。本研究では、リジン選択的に共有結合修飾可能な新規反応基を探索し、2-cyanoarenesulfonamide (CNS) を見出した。CNS はアミンに対して高い選択性を示し、ABPP やケミカルプロテオミクスで評価することで生細胞中での Heat shock protein 90 (Hsp90) に対する高い選択性を確認した。本発表では、CNS の反応性プロファイルおよびコバレント Hsp90 阻害剤への応用について、詳細を報告する。



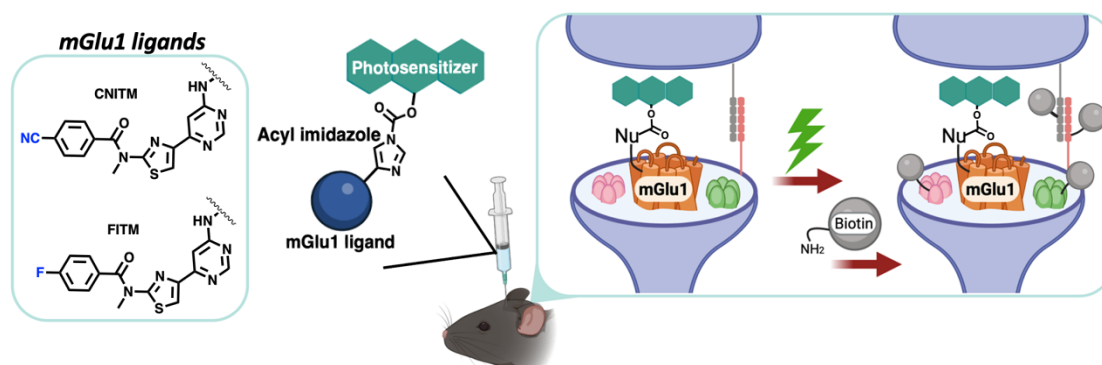
Hsp90 NTD と **s12** の X 線結晶構造解析

PhoxID light-driven proximity labeling (1): Application to GPCR interactome mapping

(¹Graduate School of Engineering, Kyoto University, ²JST ERATO) ○Fatima Yuri Tanimura Valor,¹ Mikiko Takato,¹ Tomonori Tamura,^{1,2} Itaru Hamachi^{1,2}

Keywords: Proximity labeling, GPCRs, PhoxID, Photosensitizer, mGluR1

The activity of neuronal synapses is elaborately controlled by an intricate network of protein-protein interactions (PPI) involving neurotransmitter receptors (NRs). To fully understand the brain function and to develop therapeutic drugs for neurological disorders, it is essential to characterize the molecular basis of NR interactome in neural circuits.¹ Proximity labeling (PL) methods, such as APEX and BioID/TurboID, have been used to study protein networks at neuronal synapses *in vitro* and *in vivo*. However, existing PL methods relying on enzyme fusions have several limitations, including the lack of temporal resolution, inevitable genetic modifications that may perturb the biological contexts, and incorporation of large exogenous enzymes potentially affecting NR interactome.² Very recently, we developed a chemistry-based PL named PhoxID (photooxidation-driven proximity labeling for proteome identification) to address these issues and map the PPI network of NRs *in vivo*.^{3,4} This strategy does not require any genetic manipulation and allows high spatiotemporal control of PL. The capability of PhoxID has been demonstrated by interactome analysis of ionotropic receptors, such as AMPA-type glutamate receptor and GABA_A receptor, in the live mouse brain. With this success, our new direction is to extend this method to metabotropic receptors (also referred to as G protein-coupled receptors: GPCRs). As a target receptor we selected mGlu1, a GPCR involved in motor coordination and synaptic plasticity. Accordingly, we designed and prepared several probes varying the linkers and ligands (CNITM $K_i = 27$ nM, FITM $K_i = 2.5$ nM). In this presentation, we will report on the mGlu1 targeting performance of the newly developed probes in mouse brain and the interactome analysis using PhoxID.



1) *Neurosci.* **2014**, *17*, 1491; *Neuron* **2020**, *105*, 975. 2) *Nat. Methods.* **2021**, *18*, 133; *Nat Biotechnol.* **2018**, *36*, 880. 3) *bioRxiv* 2023.05.25.542239. 4) *Chem. Lett.* **2020**, *49*, 145.

光駆動型近傍ラベリング PhoxID の新展開(2):リン脂質近傍プロテオミクス

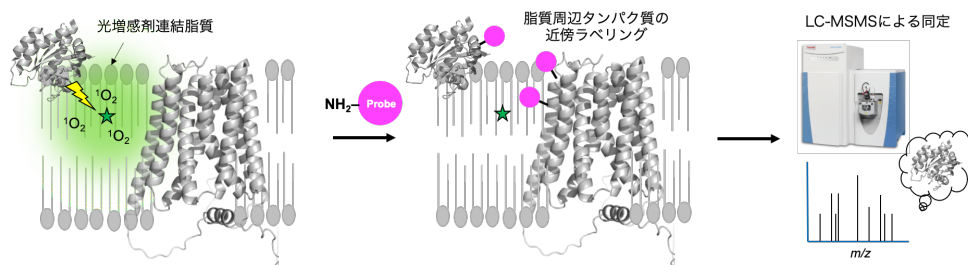
(京大院工¹・JST ERATO²) ○杉本 直樹¹・田村 朋則^{1,2}・浜地 格^{1,2}

PhoxID light-driven proximity labeling (2): Proteomics in the vicinity of phospholipids (¹Graduate School of Engineering, Kyoto University, ²JST ERATO) ○Naoki Sugimoto,¹ Tomonori Tamura,^{1,2} Itaru hamachi^{1,2}

Traditionally, lipid-protein interactions in live cells have been characterized by the photocrosslink-based method using photoreactive lipid analogs. However, this method has often suffered from low modification efficiency and requires cytotoxic UV (<365 nm). Here, we establish a new method for the comprehensive identification of lipid-protein interactions. This method is based on the PhoxID strategy, recently developed by us, and involves a lipid analog with a photosensitizer. Upon photo irradiation, proteins surrounding the lipid analog are oxidized by singlet oxygen, then the oxidized proteins are modified with a nucleophilic biotin probe and identified by mass spectrometry. In this presentation, we will report on the development of lipid analogs for Lipid-PhoxID and preliminary results in the proteomics study.

Keywords : PhoxID; Proximity labeling; Lipid; Membrane; Proteomics

生体膜には数千種類もの多種多様な脂質が存在し、それぞれが異なる生理機能を有している。例えば、ホスファチジルセリン (PS) やホスファチジエタノールアミン (PE)は、それぞれ特定の細胞質タンパク質を形質膜へとリクルートすることが知られている。従来、こうした脂質-タンパク質間相互作用解析には、光反応性脂質アナログを用いた光クロスリンク法が用いられてきた。しかし、この手法は一般に修飾効率が低く、生体毒性の高いUV(<365 nm)を必要とするといった問題があった。このような背景から、本研究では我々のグループが最近開発した PhoxID 法^(1,2)を応用し、脂質-タンパク質間相互作用を網羅的に同定するための新手法 Lipid-PhoxID 法の確立を試みた。この手法では、特定のヘッドグループを有するリン脂質の脂肪酸部位に光増感剤を導入した脂質アナログを細胞に添加し、光照射することで一重項酸素を発生させ周辺タンパク質を酸化する。この酸化タンパク質をアミン性ビオチン標識剤によって修飾し質量分析することで特定の脂質近傍のタンパク質を網羅的に同定することが可能である。本発表では、Lipid-PhoxID 法のためのプローブ設計戦略とプロテオミクス解析の結果について詳細を報告する。



1) bioRxiv 2023.05.25.542239. 2) Chem. Lett. 2020, 49, 145.

がん細胞で起こる[4+4]付加環化反応の生物学的な意義の解明に向けて

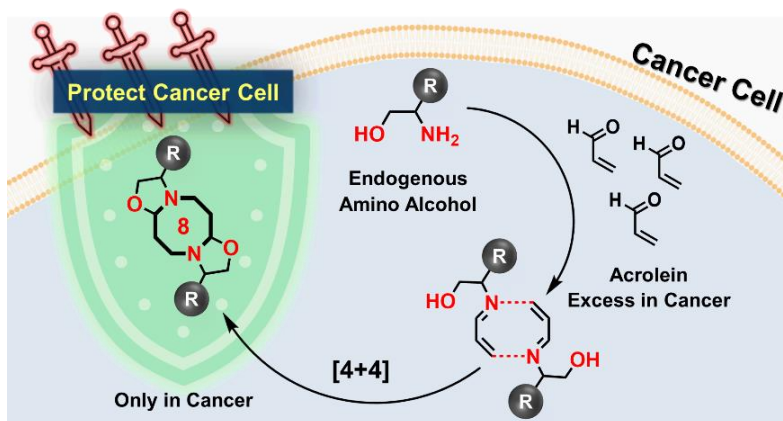
(東工大物質理工¹・理研 開拓研究本部 田中生体研²) ○関口 拓真¹・吉岡 広大²・プラディプタ アンバラ¹・田中 克典^{1,2}

Investigation of the biological significance of [4+4] cycloaddition occurring in cancer cell (¹*School of Materials and Chemical Technology, Tokyo Institute of Technology*, ²*Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory, Cluster for Pioneering Research, RIKEN*) ○Takuma Sekiguchi,¹ Hiromasa Yoshioka,² Ambara R. Pradipta,¹ Katsunori Tanaka^{1,2}

In our previous research, we discovered that amino alcohol reacts with acrolein, leading to imine derivatives that undergo [4+4] cycloaddition reactions.¹⁾ Based on this finding, we hypothesized that the acrolein present in cancer cells could react with biogenic amino alcohols in vivo, producing heterocyclic compounds that may play a role within the cancer cells. This study aims to demonstrate this reaction in cancer cells and to investigate the functions of 8-membered ring compounds.

Keywords: *Unsaturated imine; Cycloaddition; Acrolein; Amino alcohol; In vivo synthesis*

当研究室では以前、アクロレインが正常細胞に比較してがん細胞で多く産出することを見出した。さらに、このアクロレインとアミノアルコールが共役イミンを形成し、イミン 2 分子の[4+4]付加環化反応によって複素環化合物が生成することも発見した¹⁾。生体内に存在するアミノアルコール(スフィンゴシン)においても[4+4]反応が進行することから我々は、がん細胞で発現するアクロレインも生体内のアミノアルコールと[4+4]反応を起こすことで、複素環化合物が生成し、がん細胞上で何らかの機能を果たしていると考えた。本研究では、付加環化反応ががん細胞上で進行することを示すとともに、生じる複素環化合物の生物学的な機能とメカニズムについて検討した。



- 1) D. R. Chulakova, A. R. Pradipta, O. A. Lodochnikova, D. R. Kuznetsov, K. S. Bulygina, I. S. Smirnov, K. S. Usachev, L. Z. Latypova, A. R. Kurbangalieva, K. Tanaka. *Chem. Asian J.*, **2019**, *14*, 4048.

がんでの[4+4]付加環化反応を利用したがん細胞内でのポリマーの合成研究

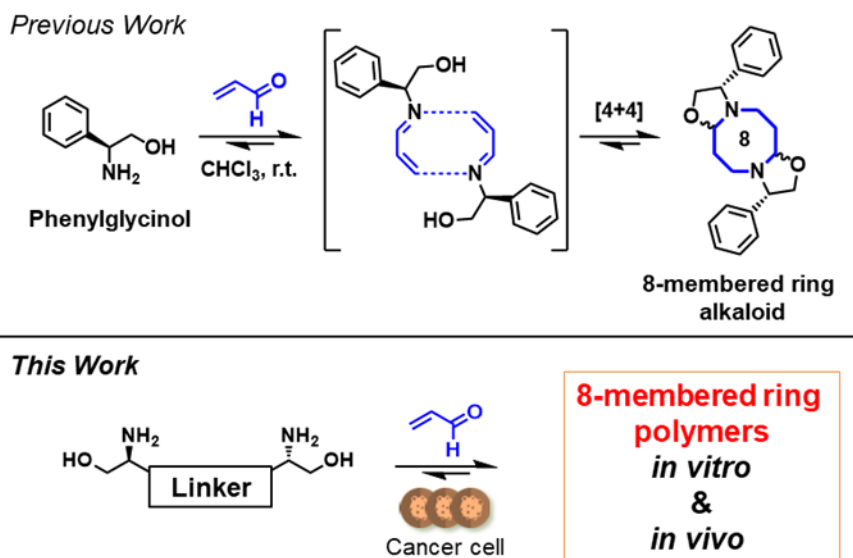
(東工大物質理工¹・理研 開拓研究本部 田中生体研²) ○川口 慎司¹・石渡 明弘²・プラディプタ アンバラ¹・田中 克典^{1,2}

Intracellular polymer synthesis utilizing [4+4] cycloaddition reaction (¹*School of Materials and Chemical Technology, Tokyo Institute of Technology*, ²*Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory, Cluster for Pioneering Research, RIKEN*) ○ Shinji Kawaguchi,¹ Akihiro Ishiwata,² Ambara R. Pradipta,¹ Katsunori Tanaka^{1,2}

The reaction between phenylglycinol and acrolein results in the rapid production of imines, which undergo [4+4] cycloaddition, producing 8-membered ring alkaloids without a catalyst. This study aims to synthesize phenylglycinol derivatives and assess their usefulness in producing 8-membered ring polymers through a single-step process. The 8-membered ring polymers can potentially be used in cancer treatment and diagnosis.

Keywords : Cancer; Acrolein; [4+4] Cycloaddition; Polymer; In vivo synthesis

我々はこれまでに、フェニルグリシノールがアクロレインと反応し、イミン形成の後、[4+4]付加環化反応を経て 8 員環アルカロイド類を無触媒で速やかに与えることを見出した^{1,2}。今回我々は、様々なフェニルグリシノール類縁体モノマーを合成し、がん細胞内でアクロレインと反応させることで、触媒なしに一举に 8 員環ポリマーを合成することを検討した。



(1) K. Tanaka, R. Matsumoto, A. R. Pradipta, Y. Kitagawa, M. Okumura, Y. Manabe, K. Fukase, *Synlett* **2014**, 25, 1026.

(2) A. Tsutsui, T. Zako, T. Bu, Y. Yamaguchi, M. Maeda, K. Tanaka, *Adv. Sci.* **2016**, 3, 1600082.

がん細胞における Diels-Alder 反応を活用したプロドラッグ法の開発

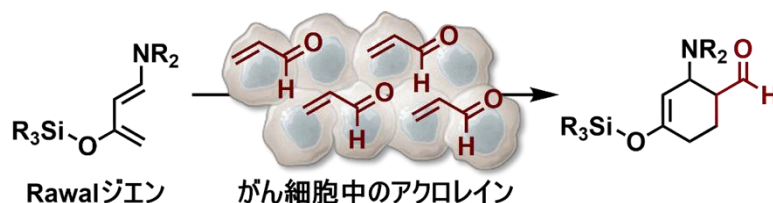
(東工大物質理工¹・理研 開拓研究本部 田中生体研²) ○眞崎 夢樹¹・寺島 一輝¹・プラディプタ アンバラ¹・田中 克典^{1,2}

Development of prodrug based on Diels-Alder reaction in cancer cells (¹*School of Materials and Chemical Technology, Tokyo Institute of Technology*, ²*Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory, Cluster for Pioneering Research, RIKEN*) ○Yuki Masaki,¹ Kazuki Terashima,¹ Ambara R. Pradipta,¹ Katsunori Tanaka^{1,2}

Previously, we found that cancer cells produce high levels of acrolein.¹⁾ We also developed a phenyl azide prodrug linked to an anticancer compound that selectively reacted with acrolein released by cancer cells.²⁾ The prodrug effectively treated the cancer in model mice while avoiding the side effects. The current study aimed to investigate the potential of the Diels-Alder reaction as a cancer treatment by utilizing the acrolein as highly reactive dienophile in cancer cells. Such technique could lead to a new approach against cancer treatments.

Keywords : *Diels-Alder reaction; Cancer; Acrolein; Diene; Albumin*

以前、当研究室ではがん細胞でアクロレインが過剰に産生されていることを発見した¹⁾。さらに、これと選択的に反応するフェニルアジドを抗がん剤と繋いだプロドラッグを開発し、モデルマウスで副作用のない効果的ながん治療を実現した²⁾。本研究では、がん代謝産物であるアクロレインを用いたがん細胞内での Diels-Alder 反応の可能性について検討した。これまで水中やがん細胞内での活性ジエンを用いた Diels-Alder 反応を検討したので、これらの経緯について報告する。



- 1) T. Tanei, A. R. Pradipta, K. Morimoto, M. Fujii, M. Arata, A. Ito, M. Yoshida, E. Saigitbatalova, A. Kurbangalieva, J.-I. Ikeda, E. Morii, S. Noguchi, K. Tanaka, *Adv. Sci.*, **2019**, 6, 1801479.
- 2) A. R. Pradipta, P. Ahmadi, K. Terashima, K. Muguruma, M. Fujii, T. Ichino, S. Maeda, K. Tanaka, *Chem. Sci.*, **2021**, 12, 5438.

金属触媒を用いたがん細胞内一酸化炭素の抗がん活性分子への変換

(東工大物質理工¹・理研 開拓研究本部 田中生体研²) ○河合 雅行¹・張 宗哲¹・ブラディプタ アンバラ¹・田中 克典^{1,2}

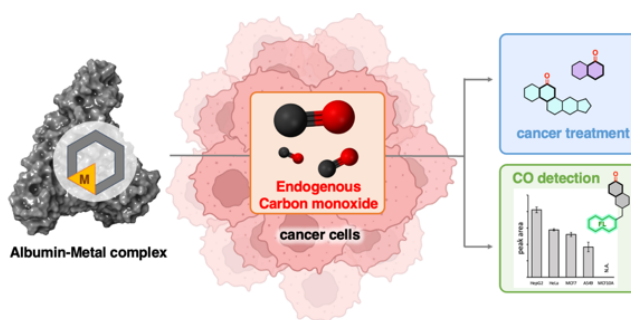
Transforming cancer metabolites into anticancer drugs with biocompatible transition metal catalysts (¹*School of Materials and Chemical Technology, Tokyo Institute of Technology*, ²*Biofunctional Synthetic Chemistry Laboratory, Cluster for Pioneering Research, RIKEN*) ○Masayuki Kawai,¹ Tsung-Che Chang,¹ Ambara R. Pradipta,¹ Katsunori Tanaka^{1,2}

The study aimed to use CO as a reagent to create functional molecules in vivo. Transition metal catalysts are required to activate CO for organic synthesis but are sensitive under physiological conditions. We designed and synthesized a metalloenzyme to convert endogenous CO under physiological conditions to address this issue. We will discuss our findings on converting and quantifying endogenous CO in cancer cells at the symposium.

Keywords: *Cancer treatment; Cancer metabolites; Transition metal catalyst; In vivo synthesis; Heterocycles*

一酸化炭素は生体内の神経伝達作用や血管弛緩作用などの重要な役割を果たしているほか、がん細胞で高発現していることが知られている。我々は、がん細胞内で発現している一酸化炭素を原料とした、がん現地選択的な機能性分子合成を試みた。

一酸化炭素は金属触媒の非存在下では反応性の乏しい分子である一方、金属触媒は生体内では即座に被毒されてしまうため、内因性一酸化炭素を有機分子へと変換できた例は無い。ここで我々は、生理的条件下であっても一酸化炭素と反応することのできる人工金属酵素をデザイン・合成し、実際のがん細胞内部の一酸化炭素の変換・定量を試みたので、これらについて報告する。



- 1) I. Nasibullin, I. Smirnov, P. Ahmadi, K. Vong, A. Kurbangalieva, K. Tanaka, *Nature Commun.* **2022**, 13, 39.
- 2) S. Minegishi, A. Yumura, H. Miyoshi, S. Negi, S. Taketani, R. Motterlini, R. Foresti, K. Kano, H. Kitagishi, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 5984.

タンパク質間相互作用を制御する分子ナノカーボンの構造活性相関研究

(名大院理¹・IRCCS²・ITbM³) ○レ ミンギア¹・駒城 龍人¹・山田 早人^{1,2}・天池 一真¹・伊丹 健一郎^{1,3}

Structure–activity relationship study of a protein–protein interaction-modulating molecular nanocarbon (¹*Graduate School of Science, Nagoya University*, ²*Integrated Research Consortium on Chemical Sciences, Nagoya University*, ³*Institute of Transformative Bio-Molecules, Nagoya University*) ○Minh Nghia Le,¹ Ryuto Kojo,¹ Hayato Yamada,^{1,2} Kazuma Amaike,¹ Kenichiro Itami^{1,3}

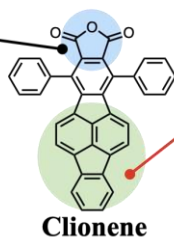
Protein–protein interactions (PPIs) are critical processes deeply involved in the control of biological events, being vital to the maintenance of homeostasis as well as the onset of many ailments. Due to the structural properties of PPI-involved proteins, research have primarily been carried out on modulation strategies utilizing antibodies and peptides, while small molecules have long been considered to be unsuited for this purpose. We present the discovery of a clione-shaped molecular nanocarbon “clionene”, modulating the PPI between PND and PND-2, responsible for silkworm diapause control. Using a quantitative NanoBit assay, clionene was found to inhibit 96% of the PND/PND-2 PPI. Structure–activity relationship studies have attributed this high activity to the wide π -conjugate plane characteristic of molecular nanocarbons, indicating the potential of developing a new chemical space for novel small-molecule pharmaceuticals.

Keywords : *Molecular nanocarbon; Protein–protein interaction; Inhibition; Chemical biology*

タンパク質間相互作用（PPI）は生体内の数多の過程に深く関わる重要な現象であり、生体恒常性の維持や疾患の発症などに密接に関連する。そのため、創薬の一大ターゲットとして見なされている。PPIに関与するタンパク質の構造的性質から、抗体・ペプチドによる PPI 制御を中心に研究が進められ、小分子による PPI 制御は一般に困難とされてきた。

本研究ではクリオネの形をした分子ナノカーボン「クリオネン」が、蚕の休眠に関わる PND/PND-2 の PPI を制御することを見出した。PND/PND-2 の PPI を定量的に評価する NanoBiT アッセイを構築し、クリオネンの活性評価を行った結果、100 μ M で PND/PND-2 の PPI を 96%阻害することが確認された。また、さらなる構造活性相関研究により、分子ナノカーボンの特徴である広い π 共役平面が活性に大きく寄与していることが解明された。

Phthalic anhydride



Wide π plane
(current progress)



PND/PND-2 PPI
Modulation Activity

Clionene

水溶性ナノベルトの哺乳類細胞における動態解析

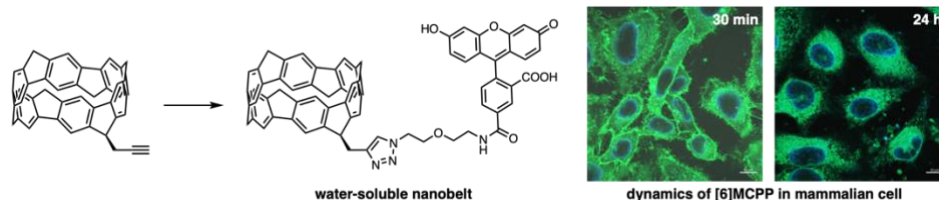
(名大院理¹・名大 WPI-ITbM²) ○河野 英也¹・Konstantin Günther¹・周戸 大季¹・天池 一真¹・八木 亜樹子^{1,2}・伊丹 健一郎^{1,2}

Analysis of the dynamics of water-soluble nanobelt in mammalian cell (¹Graduate School of Science, Nagoya University, ²Institute of Transformative Bio-Molecules, Nagoya University)
○Hideya Kono,¹ Konstantin Günther,¹ Hiroki Shudo¹, Kazuma Amaike,¹ Akiko Yagi,^{1,2} Kenichiro Itami^{1,2}

Aromatic nanobelts are aromatic hydrocarbons with a tubular fused structure. Since our laboratory synthesized the first aromatic nanobelt, (6,6) carbon nanobelt,^[1] in 2017, various aromatic nanobelts have been reported. However, their applications remain limited, and their biological applications are expected to take advantage of the unique interactions derived from their tubular structure. However, due to the hydrophobic nature of aromatic nanobelts, biological applications require the introduction of hydrophilic moieties. In 2020, our laboratory designed and reported the synthesis of methylene-bridged [6]cycloparaphenylene ([6]MCPP), a nanobelt with a methylene-bridged structure that can be easily functionalized.^[2] In this study, we used alkyne-functionalized [6]MCPP as an intermediate to achieve the synthesis of water-soluble nanobelt via a click reaction, and imaging experiments on HeLa cells revealed that the dynamics of these nanobelts is due to the belt structure.

Keywords : Aromatic nanobelt; Late-stage functionalization; Cell imaging; Cycloparaphenylene

芳香族ナノベルトは、筒状に縮環した構造をもつ芳香族炭化水素である。2017 年に当研究室が初の芳香族ナノベルトである(6,6)カーボンナノベルト^[1]の合成を達成して以降、さまざま芳香族ナノベルトの合成が報告されている。しかし、その応用研究は依然として限られており、筒状構造に由来する特異な相互作用を利用した生物学的応用が期待される。しかし、芳香族ナノベルトの疎水性のため、生物学的応用には親水性部位の導入が必要である。2020 年に当研究室は、修飾が容易なメチレンで架橋された構造をもつナノベルトであるメチレン架橋[6]シクロパラフェニレン([6]MCPP)を設計し、合成を報告した^[2]。本研究では、アルキン官能基化[6]MCPP を中間体として使用し、クリック反応により水溶性ナノベルトの合成を達成した。HeLa 細胞のイメージング実験により、[6]MCPP の動態がベルト構造に起因することが示唆された。



1) Synthesis of a carbon nanobelt. Povie, G.; Segawa, Y.; Nishihara, T.; Miyauchi, Y.; Itami, K. *Science* **2017**, 356, 712.

2) A Nonalternant Aromatic Belt: Methylene-Bridged [6]Cycloparaphenylene Synthesized from Pillar[6]arene. Li, Y.; Segawa, Y.; Yagi, A.; Itami, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 12850.

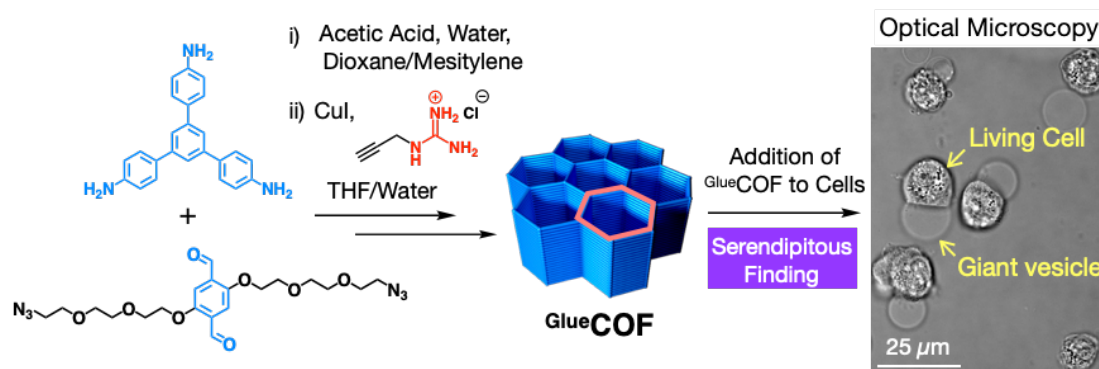
Giant Extracellular Vesicles Formed through the Interaction of Living Cells with Covalent Organic Frameworks Decorated with Guanidinium Moieties

(¹The Univ. of Tokyo) ○Young Kyoung Hong¹, Hyuna Jo¹, Takayuki Miki¹, Takuzo Aida¹

Keywords: Artificial Extracellular Vesicle, Molecular Glue, Covalent Organic Framework

Extracellular vesicles (EVs), packed with biological information, offer exciting promises for biomarker discovery and applications in therapeutics and non-invasive diagnostics.¹ These specialized vesicles can serve as potent carriers of biologically important contents, including microRNAs which play crucial roles in gene regulation and cellular signaling. The use of EVs containing bioactive materials holds immense promise in diagnostics, where specific profiles in EVs can serve as non-invasive biomarkers for disease detection and monitoring. Despite such promise, there remains two major limitations in the use of engineered EVs for wider applications: (1) Production efficiency and (2) Composition control.² Thus, an innovative technology for scalable production of EVs with improved loading efficiency of cellular components must be developed to meet the clinical demand for cargo-loaded EVs.

We have recently observed the emergence of remarkably giant EVs (10–15 μm), almost reaching the size of the parent cell, triggered by the introduction of bio-adhesive covalent organic frameworks (^{Glue}COFs)³. The adhesive characteristics of ^{Glue}COF stem from its abundant guanidinium ion pendants, enabling the formation of multivalent salt-bridges with oxyanionic units on the cell membrane. This unprecedented stimulation of EV production by COFs, a phenomenon not previously documented, unveils opportunities for the facile generation of artificial EVs.



1) A. M. Vargason, A. C. Anselmo, S. Mitragotri, *Nat. Biomed. Eng.* **2021**, 5, 951. 2) I. K. Herrmann, M. J. A. Wood, G. Fuhrmann, *Nat. Nanotechnol.* **2021**, 16(7), 748–759. 3) H. Jo, T. Kitao, A. Kimura, Y. Itoh, T. Aida, K. Okuro, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 8932–8937.