

令和3年6月14日	発表者 八木 真菜
【Journal】 <i>Chem. Commun.</i> , <b>2021</b> , 57, 1814-1817	
【Title】 amTCO, a new trans-cyclooctene derivative to study drug-target interactions in cells	
【Affiliation & Authors】 European Molecular Biology Laboratory, Cellzome, a GlaxoSmithKline company, Heidelberg, GlaxoSmithKline Medicines Research Centre, Oregon Health & Science University. Cécile Echalié, Anna Rutkowska, Ana Kojic, Douglas W. Thomson, Lee J. Edwards, Blandine S. J. McKay, Marcel Mülbaier, Carsten Schultz and Giovanna Bergamini.	
【Abstract】 本研究では、クリックケミストリーによる薬剤の可視化と薬剤標的結合の測定に活用可能なプローブを開発した。先行研究より、最も効率的なクリック反応が <i>trans</i> -cyclooctene (TCO) と tetrazine であることが確認された。しかし、TCO が疎水性を持つため、薬剤に導入するとクリックプローブの物理化学的特性や薬理学的特性に影響する。この問題を解消するために、疎水性が低く、プローブ合成時の反応速度が速い 1-(aminomethyl)- <i>trans</i> -cyclooct-4-ene (amTCO) を合成した。先行研究での TCO プローブの合成法は TCO-OH にアミン含有化合物を結合した。このプローブは加水分解可能なエステルが生成することが課題であった。そこで、本研究では amTCO にカルボン酸を結合し、疎水性を低下させた。また 1-(aminomethyl)- <i>cis</i> -cyclooct-4-ene (amCCO) をフタルイミドで保護することにより、光増感剤が不要かつ効率的な光異性化による amTCO の合成法を開発した。 先行研究で GSK5628 が apo-IDO1 阻害剤であることが確認された。疎水性の低下がプローブの性能の向上につながると仮定し、IDO1 を標的とする TCO-GSK5112 と amTCO-GSK9353 をイメージングアッセイにより比較した。TCO/amTCO と蛍光分子である Cy5 の逆電子要求 Diels Alder (IEDDA) 反応によって両プローブの局在を可視化したところ、両プローブが核と細胞質に蓄積していることが示唆された。次に、両プローブに GSK5628 を添加したところ、両プローブの特異的結合は抑制されたが、TCO-GSK5112 に非特異的蓄積が見られた。したがって、amTCO-GSK9353 はより優れた物理化学的特性を持つことが示唆された。また、蛍光活性化セルソーティング (FACS) で残留蛍光シグナルを測定した結果、amTCO-GSK9353 が高い特異性を示した。 amTCO-GSK9353 がクリックケミストリープローブとして有用であることが判明した。本研究で合成された amTCO はクリックケミストリープローブの調製だけでなく、タンパク質や核酸などの生体分子の標識への適応も期待される。	