理化学研究所
東北大学
TOHOKU UNIVERSITY
JST

PRESS RELEASE

2026 年 11 月 19 日
理化学研究所
東北大学
科学技術振興機構（JST）

# 狙ったタンパク質の上でだけスイッチオンする光触媒

## ―標的の周辺タンパク質を標識する新手法―

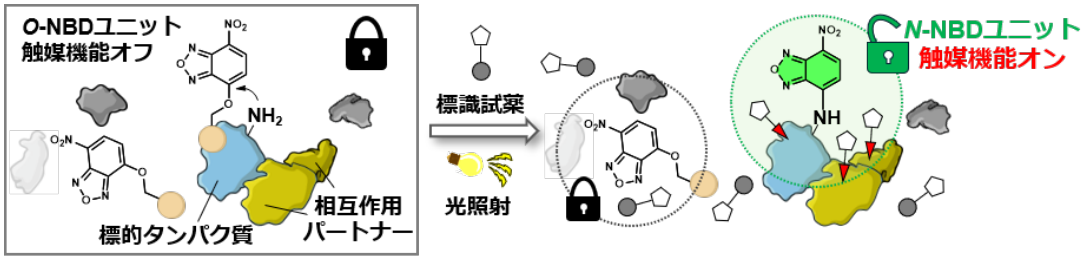
### 概要

理化学研究所（理研）環境資源科学研究センター触媒・融合研究グループの闥闥（どど）孝介専任研究員、狩谷拓実特別研究員、東北大学学際科学フロンティア研究所／大学院生命科学研究科の佐藤伸一准教授（ディスティングイッシュトアソシエイトプロフェッサー）らの共同研究チームは、標的とするタンパク質と反応して初めて触媒として働く光触媒[1]を用いて、生きた細胞の中で標的周辺のタンパク質を選択的に標識する新たな光近接標識法[2]を開発しました。

本研究成果は、医薬品の標的となるタンパク質の解析に応用することで、その周辺環境を明らかにし、医薬品の作用機序や副作用の原因の解明に貢献することが期待されます。

従来の光近接標識法では、標的のタンパク質に結合できずに細胞内を漂っている光触媒（遊離の光触媒）や標的以外に吸着している光触媒が、狙っていない場所でも標識反応を起こしてしまうことが、標的の周辺だけを選択的に解析する上での問題となっていました。今回、共同研究チームは、蛍光色素として広く使われてきたニトロベンゾキサジアゾール（NBD）という化合物が、標的タンパク質と結合して初めて光触媒として働く「スイッチ型光触媒」となることを見いだし、標的タンパク質周辺に選択的に目印を付ける新たな近接標識法を実現しました。

本研究は、科学雑誌『*Angewandte Chemie International Edition*』オンライン版（11 月 19 日付）に掲載されました。




「スイッチ型光触媒」NBD を用いた光近接標識法の概要図

## 背景

細胞の中でタンパク質は単独ではなく、周囲のタンパク質と近接・相互作用しながら機能しています。そこで「どのタンパク質がどこで、何のそばにいるか」を網羅的に知ることは、生命現象の理解だけではなく、医薬品の作用機序の解明や新たな創薬標的の発見に重要です。

近年、標的のタンパク質の近傍に化学的な目印（標識）を付け、質量分析[3]でそれらを同定する近接標識法が広く利用されています。中でも光触媒を用いる光近接標識法は、光を照射する時間を制御することで、狙ったタイミングで標的の近くに存在するタンパク質を選択的に標識できます（図 1A）。このとき細胞には、目印の材料となる「標識試薬」をあらかじめ加えておきます。標識試薬は光触媒のすぐそばでだけ活性化されるため、標的タンパク質の周辺にあるタンパク質にだけ目印が付きます。従来広く用いられてきた光近接標識法では、遺伝子操作によって標的タンパク質に光触媒を結合させるための足場としてタグと呼ばれる分子を導入する必要がありました。しかし、タグの導入はタンパク質本来の機能や細胞内での分布に影響を与える可能性があります。そこで、遺伝子操作を行わずに光触媒を標的タンパク質まで届ける方法として、特定のタンパク質だけに結合する小さな分子（リガンド[4]）を運び役として利用する手法が開発されてきました（図 1B）。リガンドに光触媒をつないで細胞に加えると、リガンドが標的タンパク質を見つけて結合するため、光触媒を標的タンパク質のすぐ近くに集めることができます。

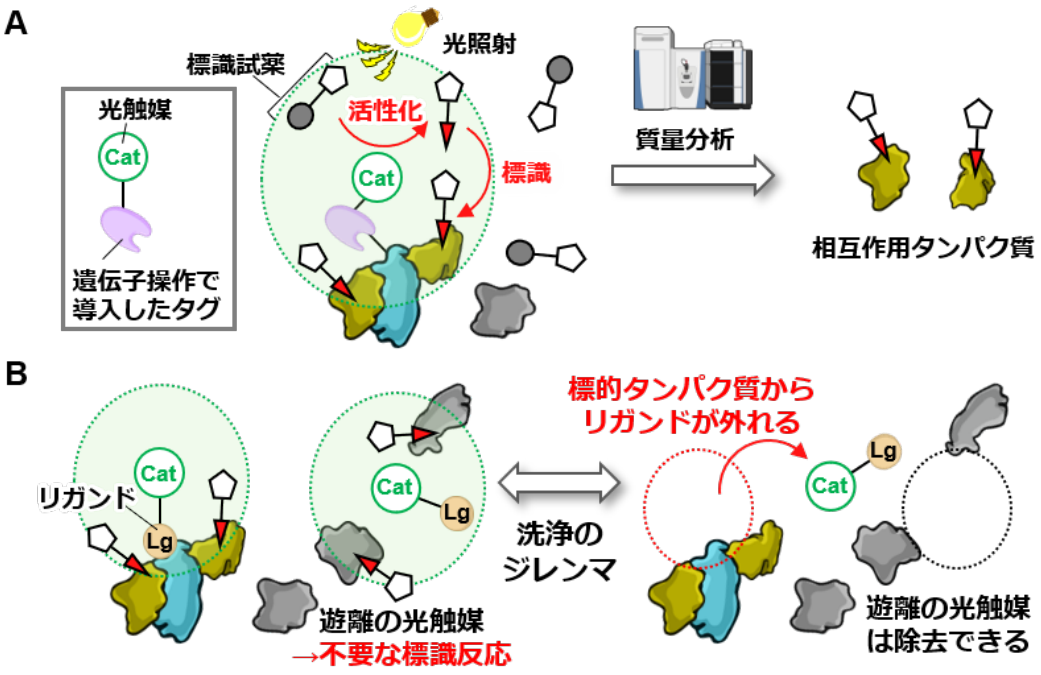



図 1 既存の光近接標識法と課題

A. 光近接標識法では、標的タンパク質に結合した光触媒（Cat）によって標識試薬が活性化され、その周辺に存在するタンパク質を標識する。標識されたタンパク質は質量分析で同定できる。

B. リガンド（Lg）を用いて光触媒を標的タンパク質に結合させる場合、標的に結合せず溶液中を漂っている遊離の光触媒が不要な標識反応を引き起こす。洗浄することで遊離の光触媒は取り除くことができる一方で、リガンドが標的タンパク質から外れ、目的とする光触媒も失われる可能性がある。
図に使用したタンパク質イラストは、NIAID Visual & Medical Arts および NIAID NIH BioArt Source の素材（BioArt 66、259、260、387、416、481；パブリックドメイン）を基に作成。

しかし、この手法では、標的タンパク質に結合できずに細胞内を漂っている光触媒（遊離の光触媒）が、目的とする場所以外のタンパク質まで標識してしまうことが問題となっていました。通常、遊離の光触媒は細胞の培地において光触媒を含まない新しい溶液に入れ替える洗浄操作によって除去しますが、ここで「洗浄のジレンマ」と呼ばれる問題が生じます。洗浄が不十分だと不要な標識が生じる一方、しっかり洗浄すると、リガンドが標的タンパク質から離れてしまい、本来必要な光触媒まで失われてしまいます（図 1B）。このジレンマは、遺伝子操作を用いずに標的タンパク質周辺を選択的に解析する上で、大きな課題となっていました。

## 研究手法と成果

これまでに闡闡専任研究員らは、蛍光色素として広く使われてきたニトロベンゾキサジアゾール（NBD）という化合物をリガンドにつなぐことで、生きた細胞の中でリガンドの標的となるタンパク質だけを選択的に光らせる手法を開発してきました[注1)]。この手法の鍵は、NBD がつながる相手の原子によって性質が変わることです。リガンドと酸素原子（O）を介して結合した *O*-NBD ユニットが標的タンパク質のリシン残基が持つアミノ基（-$NH_2$）と出合うと、リガンド側から切り離され、窒素原子（N）を介してタンパク質と結合した *N*-NBD ユニットへと変化します。こうして NBD は、リガンドから離れて標的タンパク質の上に直接つなぎ留められます。

そこで、共同研究チームは、*O*-NBD ユニットが光触媒として働かず、標的タンパク質の上で生成した *N*-NBD ユニットが光触媒として機能する（スイッチがオンになる）のであれば、標的タンパク質周辺のタンパク質を選択的に標識できると考えました（図 2A）。さらに、*N*-NBD ユニットは標的タンパク質と直接結合しているため、洗浄操作を繰り返しても失われることはなく、未反応の *O*-NBD ユニットがたとえ細胞内に残っていても、光触媒として働かないため不要な標識反応を引き起こしません。

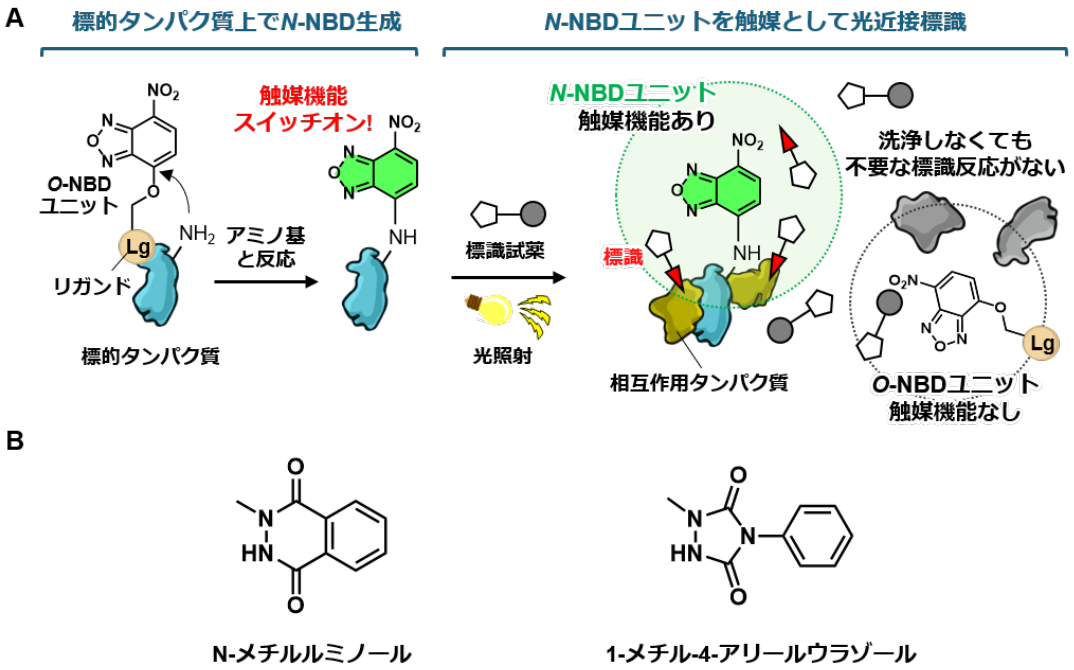



図 2 スイッチ型光触媒を用いた新たな光近接標識法

A. リガンド（Lg）と酸素原子（O）を介して結合した *O*-NBD ユニットは、標的タンパク質のアミンと反応して *N*-NBD ユニットに変化するとともに、光触媒としての機能がオンになる。その後、標識試薬を加えて光を照射することで、標的タンパク質周辺に存在するタンパク質を標識することができる。遊離した *O*-NBD ユニットが残っていても、光触媒として機能しないため、不要な標識反応は生じない。
B. 今回見いだされた、*O*-NBD ユニットでは活性化されず、*N*-NBD ユニットによって活性化される標識試薬の化学構造。

この概念を実証するために、まず、*N*-NBD ユニットによって選択的に活性化する標識試薬を探索しました。その結果、*N*-メチルルミノール[注 2)] および 1-メチル-4-アリールウラゾール[注 3)] が *N*-NBD ユニットと光によって活性化され、タンパク質を標識できることを見いだしました（図 2B）。これらの標識試薬は佐藤准教授らによって開発されたものであり、細胞内での使用も報告されています[注 4)]。

次に、本光近接標識法が細胞内でも標的周辺を選択的に標識できるかを検証しました。闐闐専任研究員らはこれまでに、細胞のエネルギー生産を担うミトコンドリア[5]外膜に存在するタンパク質 TSPO に結合するリガンド（TSPO リガンド）を細胞に加えると、TSPO の隣で複合体をつくっているタンパク質 VDAC 上に *N*-NBD が生成することを報告しています。つまり、TSPO リガンドを住所札のように使うことで、TSPO-VDAC 複合体の上に、スイッチの入った光触媒を取り付けられます（図 3A 左）[注 1)]。そこで共同研究チームは、TSPO リガンドと *O*-NBD を結合したスイッチ型光触媒と、*N*-NBD ユニットを結合して初めから光触媒として働く従来型の光触媒の二つを用意し、標識されるタンパク質にどのような違いが生じるかをヒト培養細胞（HEK293T 細胞）内で比較しました（図 3A）。標識されたタンパク質を蛍光色素[6]で可視化し、免疫染色[7]によって可視化した VDAC1（VDAC のサブタイプの一つ）の分布を重ね合わせた結果、スイッチ型光触媒で標識されたタンパク質の 81.2%が VDAC1 と同じ領域に分

布していました。一方、従来型の光触媒では VDAC1 と同領域に分布する割合は 55.7%にとどまり、VDAC1 が存在するミトコンドリア以外の領域にも標識が観察されました（図 3B）。

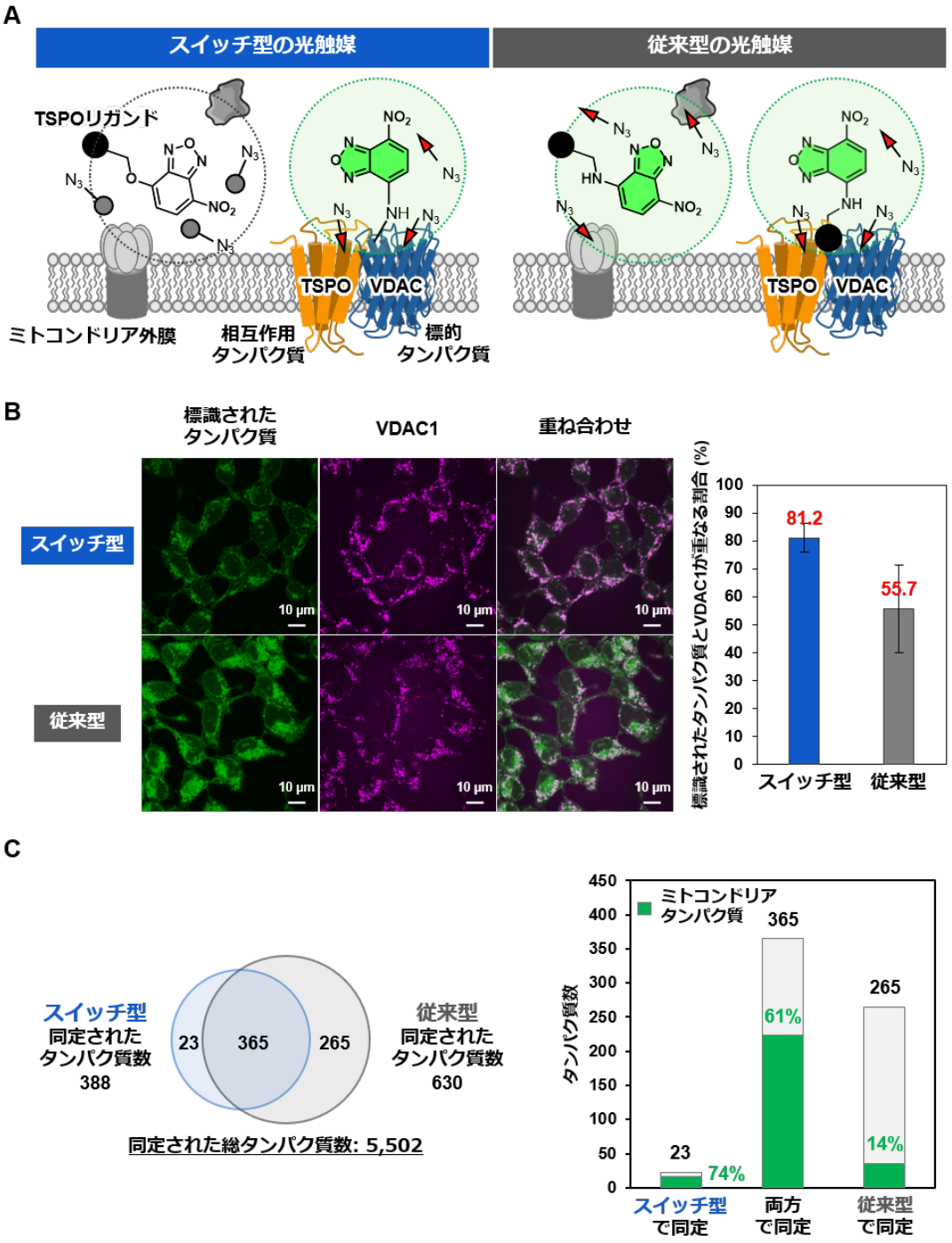



図 3 従来型／スイッチ型の光触媒を用いた細胞内光近接標識の比較

A. VDAC と TSPO はともにミトコンドリア外膜に存在し、複合体を形成するタンパク質である。TSPO に結合するリガンドに *O*-NBD ユニットを結合させることで、VDAC 上で *N*-NBD ユニットを生成させること

ができる。TSPO リガンドに *O*-NBD ユニットを結合させたスイッチ型光触媒と、*N*-NBD ユニットを結合して初めから光触媒として機能する従来型の光触媒をそれぞれ細胞に処理した後、標識反応を行い、標識されたタンパク質を比較した。
B. 標識されたタンパク質（左画像：緑色）を蛍光試薬で、VDAC1（中央画像：マゼンタ）を免疫染色でそれぞれ可視化し、蛍光イメージングによって両者の分布を比較した。スイッチ型光触媒を用いた場合、標識されたタンパク質の多くが VDAC1 と同じ領域に分布した（右上画像：重なる領域は白色に見える）。一方、従来型の光触媒では重ね合わせ画像に緑色の領域が多く残った（右下画像）。
C. スイッチ型、従来型、光触媒なしの 3 条件で光近接標識を行い、標識されたタンパク質を質量分析で同定・比較した（左図）。さらに、それぞれのグループに含まれるタンパク質について、ミトコンドリアに分布するかどうかを調べた（右図）。

さらに、標識されたタンパク質を精製して質量分析で同定したところ、同定された全 5,502 タンパク質のうち、光触媒なしの条件と比較して標識量が有意に増加したタンパク質は、スイッチ型で 388 個、従来型で 630 個であり、そのうち 365 個が両者に共通していました（図 3C 左）。それぞれのタンパク質の細胞内での分布を調べたところ、スイッチ型に特有の 23 タンパク質のうち 74%がミトコンドリアに分布しており、両者に共通する 365 タンパク質についても 61%がミトコンドリアに分布していました（図 3C 右）。これらの結果から、スイッチ型光触媒を用いた条件では、ミトコンドリア周辺で選択的に標識反応が起きていることが示唆されました。一方、従来型に特有の 265 タンパク質のうちミトコンドリアに分布するタンパク質は 14%にとどまりました。このことから、従来型の光触媒ではミトコンドリア以外の領域でも不要な標識反応が起きていることが示唆されました（図 3C 右）。

以上の結果から、今回開発したスイッチ型光触媒を用いる光近接標識法では、標的周辺以外で生じる不要な標識を抑え、標的周辺に存在するタンパク質をより選択的に検出できることが示されました。

注 1）2013 年 12 月 16 日プレスリリース「薬物の標的たんぱく質を選択的に光らせる方法を開発」
https://www.jst.go.jp/pr/announce/20131216/
注 2）S. Sato, K. Nakamura, H. Nakamura, “Tyrosine-Specific Chemical Modification with in Situ Hemin-Activated Luminol Derivatives” *ACS Chem. Biol.* 2015, 10, 2633.
注 3）S. Sato, K. Hatano, M. Tsushima, H. Nakamura, “1-Methyl-4-aryl-urazole (MAUra) labels tyrosine in proximity to ruthenium photocatalyst.” *Chem. Commun.* 2018, 54, 5871.
注 4）M. Tsushima, S. Sato, K. Miura, T. Niwa, H. Taguchi, H. Nakamura, “Intracellular photocatalytic-proximity labeling for profiling protein–protein interactions in microenvironments.” *Chem. Commun.* 2022, 58, 1926.

## 今後の期待

本研究では、スイッチ型光触媒を利用した新たな光近接標識法を開発し、生きた細胞内で標的タンパク質周辺に存在するタンパク質を選択的に解析できることを示しました。今後、本研究で用いた TSPO リガンドの代わりに医薬品を適用することで、医薬品が実際に作用するタンパク質の周辺環境を解析し、その作用機序や副作用の原因を調べる手掛かりとなることが期待されます。

さらに、本手法は遺伝子操作を必要としないため、遺伝子操作が難しく、これまで解析が困難だった初代培養細胞や患者由来細胞、組織検体にも適用できる可能性があります。こうした医療現場により近い試料を解析することで、新たな診断・治療法開発を支える解析手法へと発展することも期待されます。

## 論文情報

＜タイトル＞
Stepwise Proximity Labeling with a Switchable Organophotocatalyst
＜著者名＞
Takumi Kariya, Shinichi Sato, Keita Nakane, Syusuke Egoshi, Mikiko Sodeoka, Kosuke Dodo
＜雑誌＞
*Angewandte Chemie International Edition*
＜DOI＞
10.1002/anie.8646657

## 補足説明

[1] 光触媒
光の照射によって触媒作用を示す物質の総称。触媒とは、それ自身は反応の前後で変化せず、化学反応を促進する物質のこと。

[2] 光近接標識法
標的タンパク質に結合させた光触媒に光を照射して標識試薬を活性化させて、標的の近くに存在するタンパク質に化学的な目印を付ける手法。目印を付けたタンパク質を質量分析（[3]参照）などで同定することで、標的タンパク質の周辺環境を解析できる。

[3] 質量分析
分子をイオン化し、その質量に関する情報を測定する分析法。本研究では、標識されたタンパク質を同定し、その量を比較するために用いた。

[4] リガンド
特定のタンパク質に、鍵と鍵穴のようにぴたりと結合する小さな分子のこと。本研究では、ニトロベンゾキサジアゾール（NBD）ユニットを標的タンパク質の近くへ運ぶために用いる小分子を指す。

[5] ミトコンドリア
細胞内に存在する小器官の一つ。細胞が活動するためのエネルギー源となるアデノシン三リン酸（ATP）の産生などを担う。

[6] 蛍光色素
特定の波長の光を吸収し、別の波長の光を発する色素。タンパク質などの分子に結合させることで、その分布や量を蛍光として観察できる。

[7] 免疫染色
特定のタンパク質を認識する抗体を用いて、そのタンパク質の細胞内での位置を可視化する方法。本研究では、タンパク質 VDAC の三つのサブタイプのうち、最も発現量が多いとされる VDAC1 の分布を調べるために用いた。

## 共同研究チーム

理化学研究所　環境資源科学研究センター　触媒・融合研究グループ
専任研究員　闐闐孝介（ドド・コウスケ）
特別研究員　狩谷拓実（カリヤ・タクミ）
上級研究員　江越脩祐（エゴシ・シュウスケ）
グループディレクター　袖岡幹子（ソデオカ・ミキコ）

東北大学　学際科学フロンティア研究所／大学院生命科学研究科
准教授（ディスティングイッシュトアソシエイトプロフェッサー）
佐藤伸一（サトウ・シンイチ）
大学院生（研究当時）　中根啓太（ナカネ・ケイタ）

## 研究支援

本研究は、理化学研究所ー東北大学科学技術ハブ共同研究プログラム（研究代表者：闐闐孝介、佐藤伸一）、RIKEN Pioneering Project「RIKEN Chemical Modality（研究分担者：闐闐孝介）」、科学技術振興機構（JST）創発的研究支援事業「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、JPMJFR2005）」、同戦略的創造研究推進事業 CREST「局所翻訳・RNA 動態のための革新的技術創出（研究代表者：岩崎信太郎、JPMJCR25T2）」、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業研究活動スタート支援「タンパク質複合体解析を目的とした turn-ON 型近接標識法の開発（研究代表者：狩谷拓実、JP24K23285）」、同若手研究「脂質過酸化関連タンパク質の同定を目指した turn-ON 型近接標識法の開発（研究代表者：狩谷拓実、JP26K17972）」、同基盤研究（S）「脂質過酸化が関与するネクローシスの分子機構解明への化学的挑戦（研究代表者：袖岡幹子、JP21H05029）」、同基盤研究（B）「光触媒近接標識の細胞内制御による生物活性分子の標的解析法（研究代表者：佐藤伸一、JP23H02099）」、同学術変革領域研究（A）「プロテオーム規模天然物フットプリンティングによる化合物潜在空間探索（研究代表者：佐藤伸一、JP26H00757）」、公益財団法人アステラス病態代謝研究会研究助成金「光駆動近接標識による細胞内タンパク質間相互作用解明（研究代表者：佐藤伸一）」による助成を受けて行われました。

## 発表者・機関窓口

＜発表者＞　※研究内容については発表者にお問い合わせください。
理化学研究所　環境資源科学研究センター　触媒・融合研究グループ
専任研究員　闐闐孝介（ドド・コウスケ）
特別研究員　狩谷拓実（カリヤ・タクミ）
Email: dodo@riken.jp（闐闐）

東北大学　学際科学フロンティア研究所／大学院生命科学研究科
准教授（ディスティングイッシュトアソシエイトプロフェッサー）
佐藤伸一（サトウ・シンイチ）
Email: shinichi.sato.e3@tohoku.ac.jp

＜JST 事業に関する問い合わせ＞
科学技術振興機構　創発的研究推進部
永井諭子（ナガイ・サトコ）
Tel: 03-5214-7276
Email: souhatsu-inquiry@jst.go.jp

＜機関窓口＞
理化学研究所　広報部　報道担当
Tel: 050-3495-0247
Email: ex-press@ml.riken.jp

東北大学　学際科学フロンティア研究所　企画部　広報担当
Email: fris-pr@grp.tohoku.ac.jp

科学技術振興機構　広報課
Tel: 03-5214-8404
Email: jstkoho@jst.go.jp