

**医学奨励賞 2023 –がん領域–**
**研究成果報告書（追加助成）＜概要＞**

<b>現 所 属</b>	東京大学大学院薬学系研究科
<b>氏 名</b>	小松徹
<b>研究テーマ</b>	酵素活性の網羅的解析によるがん組織 – 血液連環の理解の進展
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。</li> <li>● 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。 (図表、写真等の貼付を含む)</li> </ul>	
<p>生体内には数千種類を超える酵素が存在し、これらによって担われる代謝反応によって生体の恒常性が維持されている。これらの機能の異常は多くの疾患とも関わることが知られており、その機能異常を理解することは疾患の本質の理解や、その診断、治療法の開発に繋がることが期待されるものである。本研究では、酵素の機能である酵素活性を直接的に可視化する基質をライブラリ的に調整し、疾患時、正常時の酵素活性の変化を網羅的解析から明らかにする enzymomics の概念に基づき、1 分子レベルの酵素活性を網羅的に検出する新たな方法論 (single-molecule enzyme activity profiling; SEAP) によって、血液中に存在する微量の酵素の機能理解を通じて疾患の理解を進めていくことを目指した研究をおこなった。</p> <p>現在のタンパク質機能解析の方法論の多くは <math>10^6</math>-<math>10^9</math> 分子を集団としてシグナルを得て評価をおこなうものが主であるが、これによる平均化によって、疾患の成り立ちに真に関係する proteoform の存在が見落とされている場面は決して少なくないと考えられる。これに対して、1 分子レベルで解析をおこなう方法論を発展させ、これを用いた生体サンプルの解析へと繋げていくことで、疾患と関わるタンパク質の機能変化の理解の深化に繋がることが期待される。</p> <p>本研究期間中に、様々なタンパク質を標的とした 1 分子酵素活性計測系を開発し、疾患と関わる活性異常の発見とそのメカニズムの理解を進めた。これにより、代表的な研究成果として、(1) 血液中の様々な protease の活性を網羅的に 1 分子計測する方法論の開発 (<i>Cell Rep. Methods</i> <b>2024</b>, <i>BioRxiv</i> <b>2025</b>) , (2) がんの増殖に関わる様々な酸化還元酵素の活性を 1 分子計測する方法論の開発 (<i>J. Am. Chem.</i> <b>2025</b>) , (3) 膵臓特異的なカルボキシペプチダーゼ活性の血液中 1 分子活性計測をおこなう蛍光プローブ設計法の確立 (<i>manuscript submitted</i>) , (4) activity-based probes を用いた 1 分子酵素活性計測法の拡張 (<i>Small Methods</i> <b>2025</b>) などの研究成果を挙げた。加えて、本研究の基盤となる 1 分子計測を使ったバイオマーカー探索の意義について総説を執筆した (<i>ACS Cent. Sci.</i> <b>2025</b>) 。これにより、本研究の意義を国内外に広くアピールした。</p> <p>また、膵臓がんの血液中の 1 分子酵素活性計測の結果を通じ、膵臓に発現が限局しているタンパク質の proteoform レベルの変化を調べることで、膵臓がんの検出に資する情報が得られることを明らかにした。血液は全ての臓器を繋ぐ道路の役割を果たしており、血液中のタンパク質は多様な臓器の異常を反映し得るが、この結果は、臓器特異的に発現するタンパク質に着目することで、血液中から読み取ることができる異常の由来を特定臓器に限定し、そこで起こる疾患の理解に有用な情報を得ることができる可能性を強く示唆する。これにより、血中バイオマーカーの探索において、特定の臓器に発現が限局しているタンパク質に着目し、その翻訳後修飾やタンパク質間相互作用を反映する proteoform レベルの解析をおこなう tissue-centric biomarker discovery approach の有用性が提案され、今後、様々な疾患の病態メカニズムの理解や診断に資するマーカー探索の重要な指針となることが期待される。</p>	

**医学奨励賞 2023 –がん領域–**
**研究成果報告書（追加助成）＜発表実績/予定一覧＞**

<b>現 所 属</b>	東京大学大学院薬学系研究科
<b>氏 名</b>	小松徹
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。</li> <li>● 欄が足りない場合は増やして記入すること。</li> </ul>	
<b>1. 論文発表実績</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。</li> <li>● 論文の PDF を添付すること。</li> <li>● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引くこと。</li> <li>● 国内外雑誌を問わない。</li> <li>● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めないこと。</li> </ul>	
1	S. Sakamoto, H. Hiraide, T. Mizuno, M. Minoda, N. Nagano, M. Suzuki, N. Iwakura, A. Kashiro, S. Nara, C. Morizane, S. Hijioka, K. Honda, Y. Kagami, R. Watanabe, Y. Urano, and <u>T. Komatsu*</u> , “Platform of Single-Molecule Enzyme Activity-Based Liquid Biopsy for Detection of Pancreatic Adenocarcinoma at Early Stages”, <b>bioRxiv</b> (2025), 査読無 ( <a href="https://doi.org/10.1101/2025.08.07.669035">https://doi.org/10.1101/2025.08.07.669035</a> )
2	S. Ishii, M. Minoda, T. Mizuno, T. Iwasaka, H. Kusuhara, K. Honda, Y. Urano*, and <u>T. Komatsu*</u> , “Development of Single-Molecule Enzyme Activity Assay for Serine Hydrolases Using Activity-Based Protein Labeling Probes” <b>Small Methods</b> , 9, e01643 (2025), 査読有.
3	<u>T. Komatsu*</u> and T. Mizuno, “Single-Molecule Enzyme Activity Analysis for Illuminating Pathological Proteoforms” <b>ACS Central Science</b> , 11, 1041–1051 (2025), 査読有.
4	R. Sawayama, M. Minoda, H. Kojima, T. Okabe, Y. Isayama, K. Kato, H. Nishimasu, Y. Urano*, and <u>T. Komatsu*</u> , “Application of Intramolecular O-to-N Phosphoryl Transfer Reaction to Design Fluorogenic Probes to Detect Activities of Enzymes That Metabolize Short Peptides and Acylamino Acids” <b>ACS Sensors</b> , 10, 664–670 (2025), 査読有.
5	M. Minoda, J. Hatakeyama, N. Nagano, T. Mizuno, T. Iwasaka, S. Shiga, K. Takahashi, H. Hiraide, S. Sakamoto, Y. Kagami, A. Kashiro, K. Honda, Y. Sugiura, K. Mishima, M. K. Mishima, H. Kusuhara, Y. Urano, and <u>T. Komatsu*</u> , “Single-Molecule Oxidoreductase Activity Analysis for Activity-Based Diagnosis Based on Proteoform Alterations” <b>Journal of the American Chemical Society</b> , 147, 4743–4751 (2025), 査読有.
6	S. Sakamoto, H. Hiraide, M. Minoda, N. Iwakura, M. Suzuki, J. Ando, C. Takahashi, I. Takahashi, K. Murai, Y. Kagami, T. Mizuno, T. Koike, S. Nara, C. Morizane, S. Hijioka, A. Kashiro, K. Honda, R. Watanabe, Y. Urano, and <u>T. Komatsu*</u> , “Identification of Activity-Based Biomarkers for Early-Stage Pancreatic Tumors in Blood Using Single-Molecule Enzyme Activity Screening” <b>Cell Reports Methods</b> , 4, 100688 (2024), 査読有.

様式 4-3②

<b>2. 学会発表実績</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。</li> <li>● アブストラクト、プログラム等の PDF を添付すること。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> </ul>		
	<b>発表時期</b>	<b>発表学会名、発表者名、演題</b>
1	2025 年 12 月	Biomedical Forum 2026, <b>小松 徹</b> , 1 分子酵素活性解析による疾患関連プロテオフォームの可視化と疾患診断への応用（招待講演）
2	2025 年 11 月	第 3 回 ATF コンファレンス, <b>小松 徹</b> , ケミカルプローブの全自動合成が実現する次世代疾患バイオマーカー探索（招待講演）
3	2025 年 9 月	AIMECS 2025, <b>Toru Komatsu</b> , <i>Single-Molecule Enzyme Activity Analysis for Illuminating Pathological Proteoforms</i> （招待講演）
4	2025 年 8 月	第 57 回 若手ペプチド夏の勉強会, <b>小松 徹</b> , ペプチドの代謝を視て疾患を理解する（招待講演）
5	2025 年 3 月	APPW 2025, <b>小松 徹</b> , 1 分子レベルの酵素活性解析に基づく疾患診断技術の開発（招待講演）
6	2025 年 2 月	International Soyang Symposium on Chemical Biology, <b>Toru Komatsu</b> , <i>Single-molecule protein functional analysis for understanding pathological protein activities at proteoform levels</i> （招待講演）
7	2024 年 12 月	光塾 2024, <b>小松 徹</b> , 酵素のはたらきを 1 分子レベルで見る ～ 1 分子計測 × ケミカルプローブ全自動合成に基づく疾患診断技術の開発～（招待講演）
8	2024 年 12 月	第 6 回 産総研化学研究シンポジウム, <b>小松 徹</b> , 酵素（生体触媒）のはたらきを 1 分子レベルで見る ～ 1 分子計測 × ケミカルプローブ全自動合成に基づく疾患診断技術の開発～（招待講演）
9	2024 年 3 月	国際交流シンポジウム 次世代薬学 アジアシンポジウム（日本薬学会 第 144 年会）, <b>Toru Komatsu</b> , <i>Development of single-molecule enzyme activity profiling platform for activity-based diagnosis of early stage pancreatic tumor</i> （招待講演）
10	2024 年 3 月	日本薬学会 第 144 年会, <b>小松 徹</b> , 有機小分子蛍光プローブと 1 分子計測技術の融合による血液中 1 分子酵素活性網羅的解析技術の開発（招待講演）
11	2024 年 3 月	日本薬学会 第 144 年会, <b>小松 徹</b> , 1 分子レベルの酵素活性網羅的解析に基づく疾患診断技術基盤の開発と応用（招待講演）



3. 投稿、発表予定 (投稿中の論文も含める)		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	<i>Cell Biomaterials</i> Under review (2024年12月投稿)	S. Sakamoto, H. Hiraide, T. Mizuno, M. Minoda, N. Nagano, M. Suzuki, N. Iwakura, A. Kashiro, S. Nara, C. Morizane, S. Hijioka, K. Honda, Y. Kagami, R. Watanabe, Y. Urano, and <u>T. Komatsu</u> *, "Development of single-molecule protease activity analysis platform to elucidate disease-related alterations of circulating proteoform signatures", <b>Cell Biomaterials</b> , <i>under review</i>
2	Under review (2025年1月投稿)	<u>T. Komatsu</u> *, M. Minoda, T. Uchida, M. Hata, S. Kanai, H. Hiraide, Y. Kagami, K. Honda, and Y. Urano*, "Solid-phase synthesis of fluorogenic ProTide probes enables global analysis of carboxypeptidase activities and reveals pancreatic-cancer-specific enzyme activity signatures in blood", <b>Nature Chemical Biology</b> , <i>under review</i>
3	In preparation (2025年2月投稿予定)	M. Minoda, T. Mizuno, T. Iwasaka, H. Kusuvara, Y. Kagami, S. Sakamoto, N. Nagano, C. Hori, K. Honda, Y. Urano, and <u>T. Komatsu</u> *, "Synthesis based on covalent capture and release (SCCR) for fully automated preparation of protease-activatable chemical tools", <b>論文投稿予定</b>