

## 新規糖ペプチド合成法の開発

天崎瑤子、真木勇太、岡本亮、梶原康宏

大阪大学 理学研究科 理研・理学研究科連携プロジェクト拠点

タンパク質の半合成法では、発現系により得られる長鎖ポリペプチドと、化学合成により修飾を施した短いペプチドとを連結することで簡便に大型のタンパク質誘導体を得ることができる。このペプチドの連結反応には、C-末端にチオエステルを有するペプチド-チオエステルが鍵化合物として広く使われている。発現したペプチドは側鎖に様々な官能基を持っているが、このペプチドを原料としてペプチド連結反応を行うためには C-末端のカルボン酸を選択的にチオエステルへと変換する手法が必要となる。このような背景に基づき、本研究では、C-末端に Cys-Gly-Cys 配列 (CGC 配列) を用いた、ペプチド C-末端選択的活性化法の開発を行った。この反応は、過去に報告されている、ペプチド-Cys-Gly 配列中での分子内 N-S アシル転位反応によるペプチド-Gly-Gly 末端でのチオエステル化<sup>[1]</sup>、および、生成したペプチド-Cys-Gly-チオエステルでのジケトピペラジン (DKP) 形成を経由する分子内 N-S アシル転位反応の 2 段階で構成される。これまでに、ペプチド-Cys-Pro 配列の C 末端カルボキシル基を適切に活性化すると、DKP を介した分子内 N-S アシル転位反応によってチオエステルが得られることが報告されている<sup>[2]</sup>。C-末端に位置する Gly 残基は Pro 残基と同様に DKP 形成を起こしやすいアミノ酸残基であることから、ペプチド-Cys-Gly-チオエステルは、Cys-Pro 配列と同様にチオエステル化が進行するのではと考えた。

C-末端に CGC 配列を持つ 8 残基のペプチド (H-LQNIF-CGC-OH) を用いて、新規チオエステル化法の条件検討を行なった。まず 1 段階目 Gly 部分でのチオエステル化は、Macmillan らの報告を参考に反応条件の検討を行った。この結果、Sodium 2-mercaptoethanesulfonate (MESNa) を含む、pH3.5 のクエン酸緩衝液を用いることで、変換収率 60% でペプチド-Cys-Gly-チオエステル体を得ることができた。この反応条件を検討する過程で、種々添加するチオールの検討を行った結果、遊離した Cys の再付加が本反応効率の鍵となることを見出した。ペプチド-Cys-Gly-チオエステル体を単離精製後、MESNa を含む pH6.5 の緩衝溶液中で 2 段階目の反応を行ったところ、目的とする peptide-チオエステル体へと 8 時間で定量的に変換されることを見出した。この結果より、CGC 配列が期待通り、ペプチド C 末端選択的にチオエステル化できることを見出した。本発表ではこれら結果の詳細を発表する。

### 参考文献

- [1] Macmillan *et al.*, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 4918-4923; Aimoto *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2006**, *79*, 1773-1780.
- [2] Aimoto *et al.*, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 3871-3877; Aimoto *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2010**, *83*, 570-574.

## 研究業績リスト

### I 査読論文

Monitoring of glycoprotein quality control system with a series of chemically synthesized homogeneous native and misfolded glycoproteins, *J. Am. Chem. Soc.* 140 (2018), 17499-17507, 10.1021/jacs.8b08653.

Tatsuto Kiuchi, Masayuki Izumi, Yuki Mukogawa, Arisa Shimada, Ryo Okamoto, Akira Seko, Masafumi Sakono, Yoichi Takeda, Yukishige Ito, Yasuhiro Kajihara

### II 国際会議等における発表

該当なし

### III 国内会議等における発表

該当なし

### IV 著書

該当なし

### V 受賞と知的財産

該当なし

### VI その他研究業績、発表文献

該当なし