

チオアシッドを利用する新規糖タンパク質の合成

梶原康宏 野村 幸汰

理研阪大連携研究室

生体内のホルモンや膜タンパク質の多くは糖タンパク質であり、糖鎖構造によってタンパク質機能が維持されている。糖タンパク質糖鎖の機能解明には、任意の構造の均一な糖鎖をもつ糖タンパク質を大量に調製する必要がある。しかし、バイオテクノロジー法で得られる糖タンパク質の糖鎖構造は不均一であるため、糖鎖構造と生理活性の厳密な相関関係を調べるには、均質な糖鎖構造を有する糖タンパク質を化学的に精密合成する必要がある。

糖タンパク質の化学合成は、糖鎖の合成、糖ペプチドの合成、合成した複数のペプチドセグメントの連結によっておこなわれる。しかし、現在の確立した合成法においても、アッセイや薬剤に使用することが出来る十分量の合成を達成した例は稀である。これは、固相上での糖鎖とペプチドの縮合効率が低く、また、多段階の精製操作がペプチドの収率を低下させるためである。そこで本研究では、糖タンパク質の収率的な新規合成法として、C末端をチオアシッドに変換した糖鎖アミノ酸を、発現した無保護のポリペプチド両末端へ化学選択的に縮合させ、迅速に糖タンパク質全長を組み上げる新規合成法の開発を検討した(Figure A.)。

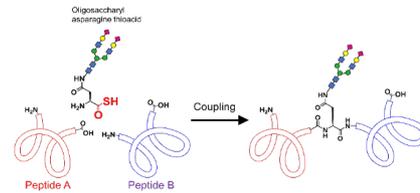


Figure A. New synthetic strategy of glycoprotein

本研究では、糖鎖アミノ酸を無保護のペプチド鎖末端へ化学選択的に縮合させる反応の開発を検討した。その結果、目的のアミノ酸をペプチドC末端へ選択的に1残基縮合させる二つの反応の開発に成功した(Figure B)。1つ目の反応として、ペプチドアリールチオエステル体(Peptide-COSR) 対

し、導入するアミノチオアシッド (H₂N-Aaa-COSH) を

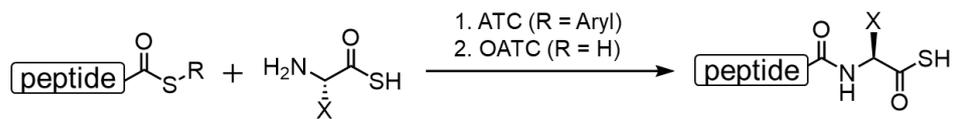


Figure B. 1) Amino thioacid coupling, 2) Oxidative amino thioacid coupling

有機溶媒である DMF 中、塩基条件で反応させることで、化学選択的にペプチド結合を形成させるアミノチオアシッドカップリング(ATC)法を開発した(Figure B-1)。2つ目の反応として、ペプチドチオアシッド(Peptide-COSH)に対し、アミノチオアシッド(H₂N-Aaa-COSH)を弱い酸化条件下で反応させ、両者をジスルフィド結合で一時的に連結し、分子内 S-N アシル転移反応によりペプチド結合を形成させる酸化的アミノチオアシッドカップリング(OATC)法を開発を行った(Figure B-2)。さらに開発した二つの反応と既存のジスルフィド仲介型ペプチド連結法を用いることで、9残基の糖ペプチド、及び糖タンパク質 Interleukin 3 の全長を計2回の縮合反応を行うことにより合成することに成功した。

研究業績リスト

I 査読論文

Regioselective α -peptide bond formation through the oxidation of amino thioacids.

Ryo Okamoto, Takuya Haraguchi, Kota Nomura, Yuta Maki, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara

Biochemistry, 58(2019), 1672–1678,

DOI: 10.1021/acs.biochem.8b01239

A chemoselective peptide bond formation by amino thioacid coupling

Ryo Okamoto, Kota Nomura, Yuta Maki and Yasuhiro Kajihara

Chemistry Letters 48 (2019), 1391–1393

doi.org/10.1246/cl.190607

II 国際会議等における発表

Expanding the chemical tool box for the semisynthesis of glycoproteins

K Nomura, R Okamoto, Y. Kajihara

8 the Chemical protein synthesis

2019 June 16–19

Berlin Harnack Haus

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