

論文の要約

| | | | |
|---|--|----|--------|
| 報告番号 | 甲創 第 77 号 | 氏名 | 大川内 健人 |
| 学位論文題目 | DEVELOPMENT OF CHEMICAL METHODOLOGIES FOR SYNTHESIS OF DIFFICULT PEPTIDES/PROTEINS | | |
| <p>【背景】</p> <p>タンパク質は様々な生命現象に関与しており、その機能解明研究では蛍光色素や非天然型アミノ酸などの機能性部位を導入したタンパク質が利用される。それらタンパク質調製法の一つとして化学合成が注目されている。タンパク質化学合成は、Step 1: ペプチドフラグメント縮合によるタンパク質一次配列の構築、Step 2: 糖鎖や蛍光色素などの機能性部位の導入、Step 3: 機能発現型タンパク質へのフォールディングにより達成される。タンパク質化学合成関連技術の進歩により単純な水溶性タンパク質の合成が可能となったが、複雑な修飾を施したペプチド/タンパク質や膜タンパク質の調製では Step 1-3 の各段階にて未だ検討課題が山積している。そこで著者は上記、難合成ペプチド/タンパク質の効率的合成に資する方法論の開発に取り組んだ。</p> <p>【方法・結果】</p> <p>著者はまず、ペプチドフラグメント縮合において有用な触媒の開発を行った。著者が開発した 2-sulfanylmethyl-4-dimethylaminopyridine (SMDMAP) は、ペプチド/タンパク質合成で汎用される Native Chemical Ligation (NCL) 反応において優れた触媒作用を示した。さらに本触媒は、従来の触媒では困難であった One-pot NCL-ラジカル的脱硫反応に適用可能であった。</p> <p>続いて、タンパク質中への機能性部位の効率的導入法の更なる拡充を目指し、<i>S</i>-保護 Cys スルホキシドを利用した C-H スルフェニル化によるチロシン (Tyr) およびトリプトファン (Trp) 残基選択的修飾反応の開発に着手した。著者の所属研究室にて、<i>S</i>-保護 Cys スルホキシドが酸性条件下アニソール添加により SEAr 機構を経て <i>S</i>-Aryl 化体を与えるという副反応を見出している。本反応に着想を得て、著者は <i>S</i>-保護 Cys スルホキシドと Tyr および Trp 間での <i>S</i>-Aryl 化戦略を立案した。種々条件検討の結果、グアニジン塩酸塩の有無により Tyr および Trp 残基選択性が劇的に変化することを明らかにした。さらに本反応の応用により血糖降下作用を有する内因性ペプチド (GLP-1) の高活性誘導体合成に成功した。</p> <p>最後に人工脂質膜を反応場とした膜タンパク質合成法論の開発に取り組んだ。最難関合成標的とされる膜タンパク質の化学合成では、① 難水溶性の膜貫通フラグメントが水系溶媒中で行われる NCL 反応に適合しない点、② タンパク質一次配列構築後の機能発現型へのフォールディングが困難である点、以上二点が問題となる。上記問題の克服を目指し、難水溶性膜タンパク質の水溶液中での合成を課題として設定、膜タンパク質可溶化ツールである脂質ナノディスクを利用する戦略を立てた。上記戦略をもとに膜貫通フラグメント担持型脂質ナノディスクを作成し、これを水系溶媒中での NCL 反応に付したところ、目的の NCL 成績体を得ることに成功した。さらに、本手法の利用により脂質ナノディスク上にてインフルエンザ M2 タンパク質の合成を達成した。</p> | | | |