

論文内容要旨

報告番号	乙 創 第 14 号	氏名	坂本 健
学位論文題目	Streamlining peptide synthesis with thiol-free native chemical ligation (チオールフリーネイティブケミカルライゲーションによる効率的なペプチド合成)		
<p>内容要旨</p> <p>ネイティブケミカルライゲーション (NCL) は、ペプチドチオエステルと N 末端システインペプチドを水中で混ぜるだけでアミド結合を作る化学反応である。この反応は、遺伝子工学的手法では大量合成が難しい翻訳後修飾タンパク質や鏡像異性体タンパク質などの合成に用いられ、ペプチドやタンパク質の合成における重要な手法となっている。しかし、ペプチドチオエステルの合成、NCL に続くワンポットでの脱硫反応などは一般的な NCL において課題と考えられていた。本研究では、これらの課題に対処し、NCL によるタンパク質合成の効率向上を目指して方法論の確立に取り組んだ。</p> <p>ペプチドチオエステル等価体である SEALide ペプチド合成法の改善</p> <p>ペプチドチオエステルは、ピペリジン処理に不安定であるため、ペプチド合成の主流である Fmoc 固相合成法による合成は困難である。この課題に対して、2009 年に大高研究室では Fmoc 法で合成可能なチオエステル前駆体・等価体である <i>N</i>-sulfanylethylanilide (SEALide) ペプチドを開発したが、当時は C 末端に導入できるアミノ酸に制限があった。今回、著者は、オキシ塩化リンを縮合剤として使用する方法を確立し、C 末端アミノ酸を反応性の低いアニリンリンカーに効率的に導入することに成功した。これにより、タンパク質構成アミノ酸 20 種類すべてを C 末端に導入可能になり、SEALide ペプチドの汎用性を向上させた。さらに、本手法により合成した多様な SEALide ペプチドが NCL 反応に適用可能であることを証明した。</p> <p>ワンポット NCL-脱硫反応を可能にする新規反応促進剤の開発</p> <p>NCL では、一般的に 4-メルカプトフェニル酢酸 (MPAA) が反応促進剤として使用されるが、MPAA は反応後の HPLC 精製での除去が難しく、NCL とよく組み合わせて使われる脱硫反応を阻害する。今回、著者はイミダゾールと 1,2,4-トリアゾールを検討し、これらが MPAA と同等の反応促進作用を持つことを証明した。イミダゾールはペプチドチオエステルを用いた NCL で、1,2,4-トリアゾールはチオエステル等価体であるペプチド-MeNbz (MeNbz: <i>N</i>-アシル-<i>N'</i>-メチルベンズイミダゾリノン) を用いた NCL で効率的に反応を促進した。さらに、これらの添加剤が、ワンポットで脱硫反応やチオール修飾反応が可能であり、極性が高いため HPLC 精製時に容易に除去可能であることを証明した。</p> <p>著者は、本研究により、NCL の成功の鍵となるペプチドチオエステルの合成や反応促進剤に関する知見を多く得ることができた。今後、これらの成果が NCL を用いたタンパク質合成のさらなる効率化に寄与することが期待される。</p>			