

## 論文の要約

報告番号	① 創 第 83 号 乙	氏 名	小林 大志朗
学位論文題目	DEVELOPMENT OF CHEMICAL METHODOLOGIES FOR PEPTIDE AND PROTEIN CUSTOMIZATION ENABLED BY OXIDATIVE UMPOLUNG OF CYSTEINE THIOL		
<p><b>【背景】</b>          アミノ酸残基選択的修飾反応は、ペプチド・タンパク質の精密な構造制御を可能とし、創薬研究において必須技術となりつつある。しかし、現状では選択可能な被修飾残基に限りがありその拡充が望まれている。著者は、求電子的活性種である <i>S</i>-クロロシステイン (<i>S</i>-Cl-Cys) の反応性に興味を持ち、これを新規アミノ酸残基選択的修飾反応へと展開する研究を実施した。</p> <p><b>【方法・結果】</b>          著者は、Cys 保護体であるチアゾリジン (Thz) とアセトアミドメチル保護システイン (Cys(Acm)) の両者を含むペプチドが、中性緩衝液中 Cu<sup>2+</sup>塩存在下、Thz と Cys(Acm) の脱保護を伴って分子内ジスルフィド架橋ペプチドに変換される副反応に遭遇した。副反応機構解析を進め、本反応では、ルイス酸および酸化剤として機能する Cu<sup>2+</sup> が、Thz のシステインスルフェン酸 (Cys(SOH)) への変換を誘起し、これが分子内 Cys(Acm) と選択的に反応するとの仮説を提唱した。本知見に立脚し、著者はまず銅塩添加を鍵とした分子内ジスルフィド結合形成反応を開発した。また得られた条件をもとに天然の二環性毒ペプチド Apamin の効率的合成に成功した。</p> <p>また著者は、<i>p</i>-メトキシベンジル保護システインスルホキシド (Cys(MBzl)(O)) が強酸条件下求電子試薬として機能するとの報告から、これを活用した新規トリプトファン (Trp) 側鎖インドール環の選択的修飾法の開発を目指した。反応条件探索過程において、強酸条件下アミン塩酸塩添加により Cys(MBzl)(O) が <i>S</i>-クロロシステイン (Cys(Cl)) へと変換され、これが Trp と高選択的に反応することを見出し、これをもとに効率的に Cys-Trp 間架橋が進行する条件を確立した。本法を用いて二環性毒ペプチド Amanitin 類縁体や乳がん増殖抑制活性ペプチド ERAP の Cys-Trp 側鎖架橋体の化学合成に成功した。</p> <p>続いて、上述の銅塩添加による Thz の開環時に塩化物イオンが存在すると、Thz の Cys(Cl) への変換が起こり、Trp 側鎖インドール環と反応すると予想した。初期条件では副反応が優先した。これは、初期反応中間体である Cys(OH) 体から Trp 修飾に必須の Cys(Cl) 中間体への変換に問題があることに起因すると予想した。そこで変換効率の向上を目指し、HFIP 溶媒中 Fe<sup>2+</sup> 塩添加を行ったところ、副反応が抑制され Cys-Trp 架橋形成が効率的に進行する条件を確立した。得られた条件を利用し、Amanitin 類縁体を含む多種 Cys-Trp 架橋型環状ペプチドの合成に成功した。</p> <p>さらに著者は、Cys(MBzl)(O) の Trp 選択的修飾試薬としての応用展開も進め、活性ペプチドの Trp 選択的脂肪鎖修飾法を開発した。なお本法により脂肪鎖修飾された血糖降下ペプチド GLP-1 の活性の保持も <i>in vivo</i> 試験で確認した。続いて、システインスルホキシドを Cys(Acm)(O) に代え、MgCl<sub>2</sub> 塩存在下、温和な条件で進行する Trp 選択的修飾法を開発した。抗体修飾を実施することで、本条件のタンパク質修飾への応用可能性を確認した。最後に、Cys(Cl) 形成時における Cys(MBzl)(O) と Cys(Acm)(O) の反応性の差を利用し、新規ペプチドヘテロ二量化法を確立し、がん増殖促進因子である Max と Myc の DNA 結合配列の二量化体合成に成功した。</p>			