難溶解性ペプチドへの新規水溶性タグ導入法の開発と HIV-1 プロテアーゼ合成への展開

（静岡大創造院 [1]・ペプチド研究所 [2]）○田中 晶子 [1]・佐藤 浩平 [1]・津田 修吾 [2]・鳴海 哲夫 [1]・吉矢 拓 [2]・間瀬 暢之 [1]

Development of facile incorporation of solubilizing tags to hydrophobic peptides and its application to the HIV-1 protease synthesis

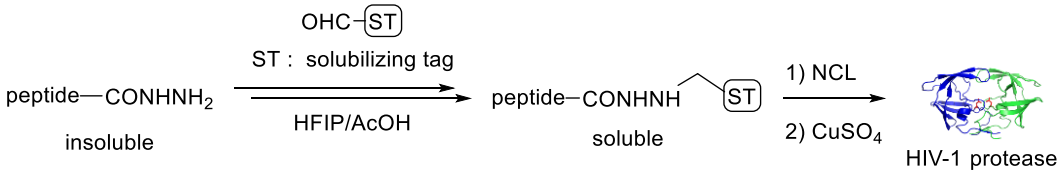
([1]*Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University*, [2]*Peptide Institute, Inc.*) ○Shoko TANAKA,[1] Kohei SATO,[1] Shugo TSUDA,[2] Tetsuo NARUMI,[1] Taku YOSHIYA,[2] Nobuyuki MASE[1]

Native chemical ligation, which proceeds under aqueous conditions, has been widely used for the chemical synthesis of proteins. Despite its advantages, the low water-solubility of synthetic intermediates restrains the preparation of protein molecules with hydrophobic or aggregative regions. To overcome this critical problem, many efforts such as the incorporation of temporary hydrophilic tags have been proposed. In this presentation, we introduce a novel method that enables the incorporation of solubilizing tag moiety for the peptide hydrazide in a post-synthetic strategy. This new strategy was validated with synthesizing HIV-1 protease.

Keywords : Chemical synthesis of protein; Solubilizing tag; Peptide hydrazide; Native chemical ligation; HIV-1 protease

タンパク質の化学合成では、水系溶媒を利用する native chemical ligation（NCL）法[1)]が汎用されるが、合成中間体の溶解性が低い場合、縮合時の分析や精製が困難となる。ペプチドの低溶解性に起因する課題を解決する手法として、水溶性タグの導入が挙げられる。近年、樹脂から切り出したペプチドのシステイン側鎖チオール基選択的に導入可能な水溶性タグが報告されたが[2)]、本手法を利用するにはシステインが必須となる。そこで、全てのペプチドに共通の C 末端構造を利用できれば構成アミノ酸に制限されないタグ導入法が開発できると考え、本研究に取り組んだ。

ペプチドヒドラジドは Fmoc 固相合成法により容易に合成可能であり、アルデヒドと選択的に反応する。そこで、ヒドラジド部位に水溶性タグを導入することを計画した。難溶解性ペプチドに対しても高い溶解力を示すヘキサフルオロ-２-プロパノールを溶媒として、ペプチドヒドラジドとアルデヒドの還元的 N-アルキル化を検討した結果、酢酸添加条件でピコリンボランを還元剤として用いることで反応の進行を確認した。また、得られた N-アルキルヒドラジドを水溶液中、硫酸銅で処理すると酸化的加水分解が進行し対応するカルボン酸が得られた。これら反応を利用して、合成中間体の溶解性が低いことが知られている HIV-1 プロテアーゼの化学合成を達成した。



1) S. B. H. Kent *et al. Science*, **1994**, *266*, 776. 2) T. Yoshiya *et al. Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, *57*, 2105.

© The Chemical Society of Japan