

ペプチド固定化樹脂を用いた凝集ペプチドの簡便な精製法の確立

(甲南大学 FIRST) ○岩田 和也・横田 晋一郎・濱田 芳男・臼井 健二

Development of an Easy-Handling Method for Purification of Aggregating Peptides.⁽¹⁾*Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST), Konan University*

○Kazuya Iwata, Shin-ichiro Yokota, Yoshio Hamada, Kenji Usui

Amyloid beta peptides(Aβs) have been investigated in various fields such as medical and materials. Aβ related studies require to supply purified Aβs sufficiently. However Aβs are difficult to synthesize chemically with high yields because of aggregation in purification processes. We demonstrated novel purification processes for Aβ(1-40) using HMBA (4-hydroxymethyl benzamide) resin. Our method offers easier synthesis, reduction, cleavage and purification and provides higher yields of Aβ(1-40) than the previous standard processes. Our method would be applicable to synthesis of other easily-oxidized and/or aggregating sequences and contribute to various fields using “difficult sequence” peptides.

Keywords : *Amyloid β peptide; Purification; Aggregating peptide; Monomerization*

近年、アルツハイマー病などのアミロイド疾患に関与するとされるアミロイドペプチドの研究が盛んに行われている。さらに、アミロイドペプチドが形成する線維は規則性が高く熱力学的に安定な構造を持つことから材料分野への応用も期待されている。アミロイドペプチドは精製時の凝集による低収率が原因で研究における十分な量のペプチドの供給が難しく、研究を進める上での障害となっている¹⁾。そこで本研究では、Aβ(1-40)を題材に精製の直前にペプチドを樹脂から切り出し、モノマー状態を維持しながら精製を行う高収率な手法を確立した。また本研究では合成中に酸化したペプチド中のメチオニンの還元手法も確立し、さらなる高収率化も試みた。まず、水酸化ナトリウム水溶液によって簡便に切断でき、モノマー状態¹⁾のままペプチドを遊離することができる HMBA(4-(Hydroxymethyl)benzoic acid)樹脂を選択して通常の Fmoc 固相法により Aβ(1-40)を合成した²⁾。次に脱保護したペプチドに対しジメチルスルフィド、ヨウ化アンモニウム、メルカプト酢酸を使用したメチオニン酸化物の還元を行った³⁾。その後、精製の直前にペプチドを樹脂から遊離することで、モノマー状態を維持しながら精製を行う手法を確立した。従来法で合成された Aβ(1-40)の精製も試みたが、メチオニン酸化やオリゴマー化に由来すると思われる複数のピークが確認された。また本法で遊離させた Aβ(1-40)の状態をアミロイド蛍光指示薬の ThT を用いて評価したところ、線維化したサンプルと比較して著しく低かったことから、遊離した Aβ(1-40)がモノマー状態を維持していると示唆された。以上の結果から、ペプチド固定化樹脂を用いる本法は従来法よりも高収率で Aβ(1-40)を回収することができた。本法はアミロイドペプチド以外の合成が難しい配列の合成、精製への適用も期待できる。

1) K.Usui et al, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **106**, 18563-18568(2009) 2) K. Usui et al, *Processes*, **8**, 464(2020)

3) M. Vilaseca et al, *Tetrahedron*, **54**, 15273-15286(1998)