

DNA Scaffold を用いたタンパク質化学合成法の開発

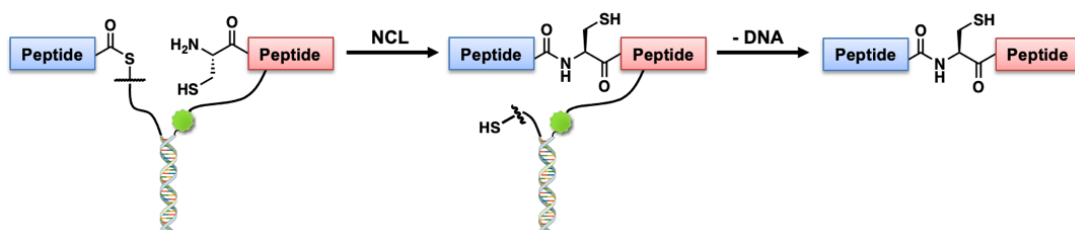
(名大院工¹・名大ナノライフシステム研究所²) ○高橋 侑也¹・水嶋 慎吾¹・井川 誠崇¹・林 剛介¹・村上 裕^{1,2}

Chemical protein synthesis by DNA scaffold-mediated peptide ligation (¹*Graduate School of Engineering, Nagoya University*, ²*Institute of Nano-Life-Systems, Innovation for Future Society, Nagoya University*) ○Yuya Takahashi,¹ Shingo Mizushima,¹ Masataka Ikawa,¹ Gosuke Hayashi,¹ Hiroshi Murakami^{1,2}

Chemical protein synthesis is chemical method to produce protein via solid-phase peptide synthesis and native chemical ligation (NCL)¹⁾, one of the most popular peptide ligation, in which N-terminal cysteinyl peptide and C-terminal peptide thioesters are ligated in a mild aqueous condition. However, hydrophobic and aggregative peptides are difficult to be ligated under the practical NCL reaction conditions. In this study, we attempted to develop an NCL reaction system using DNA scaffold to accelerate peptide ligation due to the proximity effect caused by double-strand formation and to improve peptide hydrophilicity due to high hydrophilicity of DNA. As a result, we demonstrated that the NCL proceeds at concentrations as low as nM~ μM. In addition, we succeeded in the chemical synthesis of several proteins by applying this DNA scaffold-mediated NCL system.

Keywords : *Chemical Protein Synthesis; Native Chemical Ligation; DNA Templated Chemistry*

有機化学的にタンパク質を作製する「タンパク質化学合成法」では、固相合成で作製したペプチド断片同士の連結方法としてシステイン-チオエステル間の反応である「ネイティブケミカルライゲーション (NCL)」¹⁾によるペプチド連結が汎用される。しかし、通常の NCL 反応条件では疎水性・凝集性の高いペプチドの連結は困難である。そこで本研究では、DNA を足場とした NCL 反応を開発することで、二本鎖形成がもたらす近接効果によるペプチド連結の加速、および DNA の高い親水性によるペプチド水溶性の向上を可能とする反応系の確立を試みた。まず、ペプチド-DNA コンジュゲートの化学合成を行い、これらのコンジュゲートを用いて NCL によるペプチド連結を行った結果、nM~ μM の低濃度で反応が進行することが明らかとなった。また、この DNA 足場 NCL 反応系を応用して、複数のタンパク質化学合成に成功した。



1) P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. Kent, *Science*, **1994**, 266, 776