

チオコリンを用いたワンポットペプチド連結および脱硫反応

(名大院工¹・東大院工²) 鈴木 沙依¹・中嶋 雄哉¹・加茂 直己²・岡本 晃充²・林 剛介¹・村上 裕¹

One-pot Peptide Ligation and Desulfurization Utilizing Thiocholine (¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, ²Graduate School of Engineering, The University of Tokyo) Sae Suzuki,¹ Yuya Nakajima,¹ Naoki Kamo², Akimitsu Okamoto², Gosuke Hayashi¹, Hiroshi Murakami¹

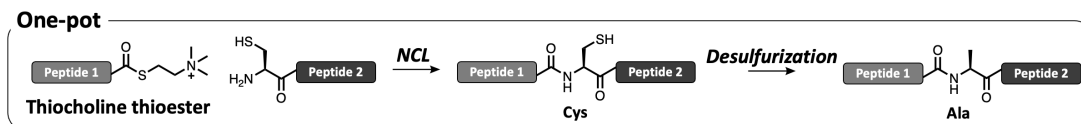
In chemical protein synthesis, peptide ligation is a key reaction to assemble peptide segments. The most popular ligation reaction is native chemical ligation (NCL)¹, in which a peptide bearing thioester at the C-terminus reacts with a peptide bearing cysteine at the N-terminus. Desulfurization reaction² that converts cysteine at the ligation site to alanine allows the use of alanine at the ligation junction.

However, 4-mercaptophenylacetic acid (MPAA), a commonly used as a thiol catalyst in NCL, inhibits the desulfurization reaction and therefore requires a purification step, which often causes a decreased yield. In this study, we attempted to use thiocholine as a thiol catalyst, because it has sufficiently low pKa (7.7) to accelerate NCL and does not inhibit desulfurization reaction. Finally, we achieved one-pot NCL and desulfurization reaction with thiocholine to synthesize a post-translationally modified histone protein.

Keywords : Chemical Protein Synthesis; Native Chemical Ligation; One-pot Synthesis; Desulfurization; Thiocholine

タンパク質を有機化学的に作製する「タンパク質化学合成法」では、ペプチド同士を繋ぎ合わせるペプチド連結反応が鍵反応となる。最も頻用されているのは C 末端にチオエステルを有するペプチドと N 末端にシステインを有するペプチドを反応させるネイティブケミカルライゲーション (NCL) である¹⁾。連結部位のシステインをアラニンに変換する脱硫反応²⁾を行うことで、アラニンを連結部位として選択することが可能になる。

しかし、通常の NCL でチオール触媒として最も利用される 4-メルカプトフェニル酢酸 (MPAA) は脱硫反応を阻害するため、これを取り除くための精製が収率低下の原因となる。そこで我々はチオール触媒として、脱硫反応を阻害しないチオコリンを用いた。本発表では、この手法により NCL と脱硫反応をワンポットで行い、タンパク質化学合成に応用した結果について報告する。



- 1) Synthesis of protein by native chemical ligation. P. E. Dawson, et al. *Science*. 1994, 266, 776.
- 2) Free-Radical-Based, Specific Desulfurization of Cysteine: A Powerful Advance in the Synthesis of Polypeptides and Glycopolypeptides, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* 2006, 118, 4222–4231