

環状ペプチドチオエステルの合成とその連結反応

(高知大理工¹) 中村佑介¹・赤井康人¹・藤坂優馬¹・○和泉雅之¹

Synthesis of Cyclic Peptide Thioester and Their Use in Native Chemical Ligation (¹*Faculty of Science and Technology, Kochi University*) Yusuke Nakamura,¹ Yasuhito Akai,¹ Yuma Fujisaka,¹ ○Masayuki Izumi¹

Native chemical ligation (NCL), which is a chemoselective peptide ligation reaction between a peptide- α -thioester and an N-terminal cysteinyl peptide, is widely used in chemical protein synthesis.¹ In NCL, 4-mercaptophenylacetic acid (MPAA) is often added to accelerate the reaction. NCL/desulfurization protocol, that converts cysteine at the ligation site to alanine, is frequently employed to synthesize proteins that do not have cysteine at the suitable position.² Thiol-additive-free NCL is ideal for NCL/desulfurization protocol because desulfurization does not proceed in the presence of MPAA. Last year, we reported⁴ the synthesis of 40 amino-acid lectin PhoSL by thiol-additive-free NCL using thiolactone.³ In this study, we examined the synthesis of thiolactones consisting of 4, 7, and 10-amino acid ring by Boc solid-phase peptide synthesis and their use in thiol-additive-free NCL.

Keywords : Chemical protein synthesis; Native chemical ligation; Peptide thioester; Thiolactone

ネイティブケミカルライゲーショ(NCL)法はペプチド- α -チオエステルと N 末端にシステイン残基を有するペプチドとの化学選択的連結反応であり¹、NCL 後の脱硫化によりシステインをアラニンに変換することでタンパク質の化学合成に広く利用されている²。一般的に、NCL では化学的に安定なアルキルチオエステルと触媒として過剰の 4-mercaptophenylacetic acid (MPAA)が用いられるが、脱硫化の際に MPAA の除去が必要であるため、MPAA の不要な NCL が検討されている。我々は昨年の本年会において、チオラクトンを用いた MPAA 添加なしの NCL³により 40 残基のレクチン PhoSL が合成できることを報告した⁴。本研究ではチオラクトンの NCL での利用をさらに進めるため、チオラクトン環を形成するアミノ酸残基数の影響を調べた。

PhoSL(1-16)ペプチドは 10 位に Cys を有する。この Cys10 ペプチドおよび Cys の位置を 7 位または 13 位にずらした Cys7 および Cys13 ペプチドチオエステルを Boc 固相合成法により樹脂上に合成した。樹脂からのチオリシスに用いる 2-mercaptoethanesulfonate の濃度や pH を検討してチオラクトンを主生成物として得ることを目指したが、チオラクトンとチオエステルはチオリシス溶液中で平衡状態にありチオラクトンを優勢に得ることは困難であった。また、アミノ酸 4 残基のチオラクトン(Cys13)は 7 残基(Cys10)や 10 残基(Cys7)に比べて形成されにくいことがわかった。現在、これらのチオラクトンを用いた MPAA 添加なしの NCL 反応を検討している。

1) Kent, S. B. H. et al., *Science* **1994**, 266, 776. 2) Dawson, P. E. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 526.; Danishefsky, S. J. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 7460. 3) Tsuda, S. et al., *Org. Lett.* **2015**, 17, 1806. 4) 赤井ら, 日本化学会第 101 春季年会, **2021**, P01-3pm-06.