

## 論文内容要旨

報告番号	乙第 7 号	氏名	津田 修吾
学位論文題目	Development of synthetic procedures using novel thioester derivatives for chemical synthesis of proteins (タンパク質の化学合成を目指した新規チオエステル誘導体の開発研究)		
<p>ネイティブケミカルライゲーション (NCL) はペプチドチオエステルと N 末端システインペプチドを水中で混ぜるだけでアミド結合ができるという反応である。NCL 反応が 1994 年に報告されて以降、ペプチドや蛋白質の化学合成研究は目覚ましい進歩を遂げてきた。特に近年、遺伝子工学的手法で大量に調製することが困難とされている翻訳後修飾蛋白質や鏡像異性体蛋白質などの調製において、化学合成の価値がより一層高くなっている。そこで著者は、NCL 反応を利用し、このような蛋白質の化学合成を実現可能にするための実用的な方法論の開発研究を行った。今回、ペプチド中に存在する分子内チオール基を利用した新たなペプチド合成手法を三つ見出すことに成功した (①~③)。①: 一般的な NCL 反応ではアリールチオールなどの反応活性剤を過剰量使用することが NCL 反応を成功させる上で重要であるが、分子内にシステインを多く持つペプチド間の NCL 反応では、反応活性剤は必要ないことが示唆された。それらの NCL 反応では、系中でシステインのチオール基を介したチオエステル (チオラクトンや S-イソペプチド) を形成することが知られている。この反応は、今まで副反応として考えられていたが、今回の結果より反応の促進に関与していることが示唆された。つまり、システインのチオール基を介したチオエステルの NCL 反応における反応性は、汎用性のあるアルキルチオエステルに比べて優位に高いことがわかった。②: 長鎖ペプチドを合成する上で必要な高活性アリールチオエステルを固相合成で直接合成することは困難である。そのため、調製容易で、かつ、反応性の高いチオエステルユニットの開発は必須な研究課題であった。著者は、より高活性なチオエステルを見つけるために①の結果を基に、種々のシステイン誘導体を合成し、そのチオール基を介したチオエステルの NCL 反応における反応性と Boc 固相合成法での合成難易度を評価した。その結果、N-トリフルオロアセチルシステインを有する "ペプチド-TfAc" が高活性、かつ、Boc 固相合成法で直接合成可能なユニットであることを見出した。また、本ユニットを速度論的な NCL 反応に応用した結果 neuromedin S の全合成を達成することができた。③: 一般にチオエステルは脱 Fmoc 反応で用いるピペリジン処理により分解してしまうために、チオエステルを Fmoc 固相合成法で調製することは困難である。しかし、Boc 固相合成法の最終脱保護条件が過激であるため、リン酸化蛋白質や糖蛋白質などの翻訳後修飾蛋白質の調製には適さない。今回、著者は酸性溶液中で N→S アシルシフトを伴う新規 Fmoc 固相合成用チオエステルユニット "SEAlide" の開発に成功した。本化合物は Fmoc 固相合成中、塩基性条件で安定なアニリド型で存在し、脱保護反応後の酸処理でアニリド型からチオエステル型へと変換される構造を有している。本化合物を用いた検討の結果、リン酸ペプチドを含む四つのペプチドチオエステルを合成することができた。①~③の結果より、著者は NCL 反応の成功の鍵となる反応活性剤やチオエステルの合成に関する知見を多く得ることができた。今後、これらの手法は蛋白質の化学合成戦略において実用的な方法論となるものである。</p>			