

## β-メルカプトリジン誘導体を用いた IL-7 の合成研究

大垣 七海、真木 勇太、岡本 亮、梶原 康宏

分野横断プロジェクト研究部門 理研・理学研究科連携先端計測プロジェクト

生体内の多くのタンパク質には翻訳後修飾によって糖鎖が付加され、この糖鎖はタンパク質の機能調節に関与することが知られている。生合成により得られる糖タンパク質は多様な糖鎖構造を有しており、どの糖鎖が機能発現に重要なのか特定することができない。そこで、糖鎖機能を詳細に調べるためには、化学合成によって任意の位置に単一の構造の糖鎖を持った糖タンパク質を調製し、生物活性評価を実施することが重要となる。

本研究では、糖鎖機能の解明を進めるために、アスパラギン(N)結合型糖鎖を有するインターロイキン-7 (IL-7) の合成を検討した。IL-7 は全 152 のアミノ酸からなる糖タンパク質であり、糖鎖付加が起こり得る位置が 3 箇所ある。生物活性に糖鎖が重要であることが示唆されているものの、化学合成例はなく、詳細な機能解明は進んでいない。本合成では、鍵化合物として β-メルカプトリジン誘導体 (β-HS-Lys) を化学合成し、当研究室で確立されたチオアシッドを利用する糖ペプチド合成法 (Diacyl Disulfide Coupling)<sup>1</sup> を利用して効率的に IL-7 を合成することを目指した。

まず、ペプチド連結反応に重要な β-HS-Lys の新規合成法を検討した。市販のグリシルホスホナートを原料とし、Horner-Wadsworth-Emmons 反応を用いて 3 段階でラセミ体の β-HS-Lys を得ることに成功した。さらにキラルカラムを用いた光学分割によって望む光学活性な β-HS-Lys を得た。この β-HS-Lys を、別途化学合成した C 末端ペプチドに導入することで連結反応に必要なペプチドセグメントの調製を進めている。続いて、N 末端の長鎖ペプチド (115 残基) の調製を検討した。まず、大腸菌発現によって効率的に長鎖ペプチドを得ようと試みたが、凝集等の問題で目的物を効率的に得ることができなかった。そこで、この 115 残基のペプチドを 4 つのセグメントに分割して再度合成を検討した。59 残基のペプチドセグメントについて大腸菌発現を試みたところ目的物を得ることに成功し、連結反応のためにペプチド-チオエステル誘導体へと化学変換した。残るセグメントについては、フロー法を用いた高速ペプチド固相合成法<sup>2</sup>等を活用して調製した。その際、ペプチドの精製操作を簡便にするために新規なペプチド補足法を検討し、従来法と比べてペプチドを効率よく調製することに成功した。これまでに、全長糖ポリペプチドを得るために必要となる種々の鍵化合物の調製を完了しており、これら化合物を用いてターゲットである糖鎖付加型 IL-7 の合成を現在進めている。

参考文献：

1. K. Nomura, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 10157.
2. M. D. Simon, *et al.*, *Chem. Bio. Chem.* **2014**, *15*, 713.

## 研究業績リスト

### I 査読論文

Isolation and characterization of high-mannose type glycans containing five or six mannose residues from hen egg yolk

Yuta Maki, Yuiko Otani, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Yasuhiro Kajihara

Carbohydrate Research, 2022, 521, 108680

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2022.108680>

Design and Synthesis of Glycosylated Cholera Toxin B-Subunit as a Tracer of Glycoprotein Trafficking in Organelles of Living Cells.

Yuta Maki, Kazuki Kawata, Yanbo Liu, Kang-Ying Goo, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara,

Ayano Satoh, Chemistry - A European Journal, 2022, 28, e202201253.

DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.202201253>

Optimization of Semisynthetic Approach for Glycosyl Interferon  $\beta$ -polypeptide by Utilizing Bacterial Protein Expression and Chemical Modification.

Yie-Kie Chong, Chaitra Chandrashekar, Donglin Zhao, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

*Organic & Biology Chemistry* 2022, 20, 1907–1915.

DOI: <https://doi.org/10.1039/D1OB02391H>

Semisynthesis of a homogeneous glycoprotein using chemical transformation of peptides to thioester surrogates.

Ryo Okamoto, Kento Iritani, Yoko Amazaki, Donglin Zhao, Chaitra Chandrashekar,

Yuta Maki, Yurie Kanemitsu, Tomoka Kaino, Yasuhiro Kajihara

*Journal of Organic Chemistry* 2022, 87, 114–124.

DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02031>

Regulating Antifreeze Activity through Water: Latent Functions of the Sugars of Antifreeze Glycoprotein Revealed by Total Chemical Synthesis.

Ryo Okamoto, Ryo Orii, Hiroyuki Shibata, Yuta Maki, Sakae Tsuda, Yasuhiro Kajihara

Chemistry - A European Journal, 2023, e202300690.

DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.202203553>

## II 国際会議等における発表

該当なし

## III 国内会議等における発表

RAPID SYNTHESIS OF GLYCOINSULIN DERIVATIVES BY FLOW-BASED PEPTIDE SYNTHESIS

Yuta Maki, Surin K. Mong, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara, Bradley L. Pentelute

The 59th Japanese peptide Symposium

2022年10月26-日28日

トークネットホール仙台、宮城

ポスター

糖タンパク質インターロイキン-6の半合成研究

劉晏博, 岡本亮, 真木勇太, 梶原康宏

学会名 第41回日本糖質学会年会

2022年9月29日 - 2022年10月1日

大阪大学コンベンションセンター、大阪

口頭

Semisynthesis of Disialyl Complex-type Glycosyl IL-8 for the Study of the Glycan-Hydration Effect on Protein Dimerization

Yugoviandi Primanda Mamahit, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

第41回日本糖質学会年会

2022年10月1日

大阪大学コンベンションセンター、大阪

ポスター

IgG抗体Fcの4次構造構築のための糖ペプチド合成

第41回 日本糖質学会年会

西川晴美, 上田南, 真木勇太, 岡本亮, 和泉雅之, 梶原康宏

2022年9月29日—10月1日

大阪大学コンベンションセンター、大阪

ポスター

新規ペプチド調製法を用いたインターロイキン21の半合成研究

井澤奈々, 真木勇太, 岡本亮, 梶原康宏

糖質学会

2022年9月29日-10月1日

大阪大学コンベンションセンター、大阪  
ポスター

UGGT 阻害剤開発に向けたスクアラミド修飾 UDP 類縁体の合成

阿部 純平, 梶浦 裕之, 菊間 隆志, 木塚 康彦, 武田 陽一, 梶原 康宏, 伊藤 幸成

第41回糖質学会年会

2022年9月29日 - 2022年10月1日

大阪大学コンベンションセンター、大阪  
口頭発表

#### IV 著書

該当なし

#### V 受賞と知的財産

該当なし

#### VI その他研究業績、発表文献

該当なし