

フロー法を用いた迅速な糖ペプチド合成法の開発

山口真太郎、平尾宏太郎、真木勇太、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

分子レベルで糖鎖機能を解明するためには、均一な糖鎖構造を有する糖タンパク質を化学合成によって調製することが重要である。一般的に糖タンパク質を合成するためには、固相合成によるペプチドの伸長、ペプチド同士の連結反応、そして得られた全長糖ペプチドのフォールディング操作が必要となる。多段階の反応や精製操作が必要となり、糖タンパク質合成は長い期間を要するため、合成法の効率化が求められている。

そこで本研究では、ペプチド伸長を高速で実施できるフロー固相合成法⁽¹⁾を利用し、糖ペプチドの迅速合成を検討することにした。この合成法では、フロー条件下、試薬を加熱して反応速度を上げながら反応を実施するため、合成時間を大幅に削減することができる。アミノ酸の縮合を 30 秒程度、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル (Fmoc) 基の脱保護を 20 秒でおこなうことができ、Fmoc 固相合成を 1 アミノ酸あたりわずか 3 分で実施することができる。

まずフロー法を用いた Fmoc 固相合成に用いるための糖鎖-アスパラギン (Asn) 誘導体を合成した。鶏卵から単離した 9 糖からなるアシアロ糖鎖-Asn⁽²⁾を出発原料とし、糖水酸基を保護した糖鎖保護体-Asn を合成した。

続いて、モデル糖ペプチドのフロー Fmoc 固相合成をおこなった。その結果、一般的な従来法では 35 時間程度を要するのに対し、本フロー合成によってわずか 2 時間程度で 25 残基からなる糖ペプチドを伸長することができた。その後、緩衝液中で温和な条件により糖鎖水酸基の保護基を除去し、目的の糖ペプチドを迅速に得ることができた。さらに、糖鎖を 2 本持つ 45 残基の長鎖糖ペプチドにおいても同様の手法を用いて検討したところ、目的物を得ることに成功した。

確立したフロー固相合成法によって糖ペプチド合成が非常に簡便に合成できるようになった。さらに本手法を用いて、種々の糖タンパク質合成を進めている。

参考文献：

- (1) M. D. Simon, P. L. Heider, A. Adamo, A. A. Vinogradov, S. K. Mong, X. Li, T. Berger, R. L. Polcarpo, C. Zhang, Y. Zou, X. Liao, A. M. Spokoyny, K. F. Jensen, B. L. Pentelute, *Chem. Bio. Chem.* **2014**, *15*, 713–720.
- (2) Y. Kajihara, Y. Suzuki, N. Yamamoto, K. Sasaki, T. Sakakibara, L. R. Juneja, *Chem. Eur. J.* **2003**, *10*, 971–985.

研究業績リスト

I 査読論文

Harnessing Free Sulfate Groups in Glycosylation Reactions

Yuta Maki, Akihiro Manbo, Abe Junpei, Hiroki Nobutou, Kohtaro Hirao, Ryo Okamoto, Masayuki Izumi, Shusuke Yamanaka, Mitsutaka Okumura, Yasuhiro Kajihara
Angewandte Chemie International Edition, **64** (2025), e202416743
doi.org/10.1002/anie.202416743

Uncovering a Latent Bioactive Interleukin - 6 Glycoform

Yanbo Liu, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Ayano Satoh, Yasuto Todokoro, Yurie Kanemitsu, Keito Otani, Yasuhiro Kajihara,
Angewandte Chemie International Edition, **63** (2024), e202411213
doi.org/10.1002/anie.202411213

Post-translational activation of the C-terminus of polypeptides for the synthesis of peptide thioesters and peptide thioester surrogates

Yanbo Liu, Yasuhiro Kajihara, Ryo Okamoto
Frontiers in Chemistry, **12** (2024)
doi.org/10.3389/fchem.2024.1424953

Engineering of a Biologically Active Glycosylated Glucagon-Like Peptide-1 Analogue

Chandrashekar C, Lin F, Nishiuchi Y, Mohammed SF, White BF, Arsenakis Y, Yuliantie E, Zhao P, van Dun S, Koijen A, Kajihara Y, Wootten D, Dodd GT, van den Bos LJ, Wade JD, Hossain MA.
Journal of Medicinal Chemistry, **67** (2024), 7276 – 7282
doi: 10.1021/acs.jmedchem.4c00093.

II 国際会議等における発表

Semisynthesis of O-glycosylated human interleukin-2 by novel peptide ligation

Jiusi Fang, Yanbo Liu, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

9th Chemical Protein Synthesis conference

2024 年 6 月 2 日-6 月 5 日

Nagoya Hilton, Noyori Conference Hall, Nagoya University, Nagoya, Japan

Development of the new synthetic method for β -mercaptohistidine derivatives for protein synthesis

Yumi Fujioka, Yumi Matsui, Junpei Abe, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

9th Chemical Protein Synthesis conference

2024 年 6 月 2 日-6 月 5 日

Noyori conference hall, Nagoya University, Japan

Study for the elucidation of the correlation between sialylglycans and protein-protein interaction by using chemical synthesis of proteins

Risa Iwasaki, Harumi Nishikawa, Ryo Okamoto, Yuta Maki, Yasuhiro Kajihara

9th chemical protein synthesis conference

2024 年 6 月 2 日-5 日

Noyori conference hall, Nagoya University, Japan

Synthetic study of β -mercaptoglutamic acid derivative and its application to protein synthesis

Teppey Miwa, Junpei Abe, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

9th Chemical Protein Synthesis Conference in Nagoya Japan

2024 年 6 月 2 日-5 日

Noyori conference hall, Nagoya University, Japan

A New Synthetic Strategy of γ -mercaptoisoleucine derivative and the Application for Glycopeptide Synthesis

Kazuki Mitsusada, Junpei Abe, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

9th Chemical Protein Synthesis Conference in Nagoya Japan

2024 年 6 月 2 日-5 日

Noyori conference hall, Nagoya University, Japan

Rapid Synthesis of Glycopeptides by Flow Chemistry

Yuta Maki, Shintaro Yamaguchi, David Sarabia-Castillo, Ryo Okamoto, Bradley L. Pentelute, Yasuhiro Kajihara

9th Chemical Protein Synthesis Conference in Nagoya Japan

2024 年 6 月 2 日-5 日

Noyori conference hall, Nagoya University, Japan

Synthetic approaches toward glycans and glycoproteins

Yuta Maki, Yasuhiro Kajihara

13th Asian Community of Glycoscience and Glycotechnology Conference

2024 年 11 月 14 日-15 日

ASEEC Tower, Surabaya, Indonesia

Ⅲ 国内会議等における発表

新規な β -メルカプトヒスチジン誘導体合成法の開発 (口頭)

藤岡侑美, 松井由美, 阿部純平, 真木勇太, 岡本亮, 梶原康宏

日本化学会第 104 春季年会

2024 年 3 月 18 日-21 日

日本大学理工学部

γ -メルカプトイソロイシンの新規合成法の開発と糖ペプチド合成への適用 (口頭)

光定和紀, 阿部純平, 真木勇太, 岡本亮, 梶原康宏

日本化学会第 104 春季年会

2024 年 3 月 18 日-21 日

日本大学理工学部

糖タンパク質合成に向けた β メルカプトグルタミン酸の合成研究 (口頭)

三輪哲平, 阿部純平, 真木勇太, 岡本亮, 梶原康宏

日本化学会第 104 春季年会

2024 年 3 月 18 日-21 日

日本大学理工学部

有機溶媒中の水分量を簡便に制御する核磁気共鳴法のための新規サンプリング法 (口頭)

梶原康宏, 森口達也, 真木勇太, 岡本亮

日本化学会第 104 春季年会

2024 年 3 月 18 日-21 日

日本大学理工学部

フロー法を用いた迅速糖ペプチド合成法の開発(口頭)

山口真太郎, 真木勇太、岡本亮, Bradley L. Pentelute, 梶原康宏

日本化学会第 104 春季年会

2024 年 3 月 18 日-21 日

日本大学理工学部

新規サンプリング法を用いた核磁気共鳴法による糖と水の相互作用解析(口頭)

森口達也、真木勇太、岡本亮、梶原康宏

日本化学会第 104 春季年会

2024 年 3 月 18 日-21 日

日本大学理工学部

小型人工糖タンパク質を利用した糖鎖とタンパク質間相互作用相関関係の解明研究(口頭)

西川晴美、岡本亮、真木勇太、梶原康宏

第 24 回関西グライコサイエンスフォーラム

2024 年 5 月 11 日

大阪大学豊中キャンパス 大阪大学会館

Elucidation of novel glycan functions that promote an α -helix formation on peptide
(Oral)

Intan Hawina Anjari, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

第 43 回日本糖質学会年会

2024 年 9 月 12 日-9 月 14 日

慶應義塾大学日吉キャンパス

糖タンパク質間相互作用を向上させる新規な糖鎖機能の解明研究(口頭)

岩崎理沙、西川晴美、真木勇太、岡本亮、梶原康宏

第 43 回日本糖質学会年会

2024 年 9 月 12 日-9 月 14 日

慶應義塾大学日吉キャンパス

核磁気共鳴法を利用とする糖鎖と水の特異的な相互作用の解析(口頭)

石川華, 森口達也, 光定和紀, 真木勇太, 岡本亮, 梶原康宏

第 43 回日本糖質学会年会

2024 年 9 月 12 日~9 月 14 日

慶應義塾大学日吉キャンパス

無保護硫酸基を有する新規糖鎖供与体の開発とコンドロイチン硫酸合成への応用(口頭)

満保章泰, 真木勇太, 阿部純平, 信藤紘樹, 岡本亮, 和泉雅之, 山中秀介, 奥村光隆, 梶原康宏

第 43 回日本糖質学会年会

2024 年 9 月 12 日~9 月 14 日

慶應義塾大学日吉キャンパス

Semisynthesis of O-glycosylated human interleukin-2 by novel peptide ligation
(Poster)

Jiusi Fang, Yanbo Liu, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

The 61st Japanese Peptide Symposium

2024 年 10 月 29 日-10 月 31 日

名古屋大学豊講堂

Development of the new synthetic method for β -mercaptohistidine derivatives for
protein synthesis (Oral)

Yumi Fujioka, Yumi Matsui, Junpei Abe, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

The 61st Japanese Peptide Symposium

2024 年 10 月 29 日-10 月 31 日

名古屋大学豊講堂

Synthetic study of β -mercaptoglutamic acid derivative and its application to
protein synthesis (Poster)

Teppei Miwa, Junpei Abe, Kohtaro Hirao, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Yasuhiro Kajihara

The 61st Japanese Peptide Symposium

2024 年 10 月 29 日-10 月 31 日

名古屋大学豊講堂

Design and synthesis of mini-erythropoietin (Poster)

Kazuki Mitsusada, Kohtaro Hirao, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Ayano Satoh, Yasuhiro

Kajihara

The 61st Japanese Peptide Symposium

2024 年 10 月 29 日-10 月 31 日

名古屋大学豊講堂

Development of rapid flow-based glycopeptide synthesis (Poster)

Shintaro Yamaguchi, Yuta Maki, Ryo Okamoto, Bradley L. Pentelute, Yasuhiro Kajihara

The 61st Japanese Peptide Symposium

2024 年 10 月 29 日-10 月 31 日

名古屋大学豊講堂

IV 著書

均一糖鎖構造をもつ糖タンパク質の精密合成と機能解析

平尾宏太郎、真木勇太、梶原康宏

羊土社, 実験医学 (2025 年 2 月発刊、増刊 vol43 No. 2 135-342、64-70 ページ)

ケミカルバイオロジーの冒険 (8) 生体分子や医薬品をつくるための化学 ペプチド・タンパク質の化学合成

林 剛介・佐藤浩平・真木勇太・布施新一郎

東京化学同人 (2024 年 11 月, 31-37 ページ)

V 受賞と知的財産

該当なし