セレンの特性を生かしたペプチド化学の新展開

佐藤 浩平

Recent Developments of Selenium-driven Peptide Chemistry

Kohei Sato

Native chemical ligation (NCL), featuring the use of N-terminal cysteinyl peptides and peptide thioesters, is among the most widely used methods to chemoselectively assemble unprotected peptides. To expand the applicability of the NCL-based assembly, ligation techniques using N-terminal selenocysteinyl peptides and/or peptide selenoesters have been developed. This review describes the recent applications of the selenium-driven peptide ligations.

はじめに

無保護ペプチド鎖同士を化学選択的に縮合するペプチドライゲーションは、長鎖ペプチド/タンパク質合成を達成するうえで必須の合成技術である。特に、ペプチドチオエステルと N 末端システイン (Cys) ペプチド間でアミド結合を形成する native chemical ligation (NCL) 法は、信頼性の高いタンパク質化学合成法として汎用されている (図 1)¹⁾。NCL 法では、硫黄原子がその反応性の鍵を握るが、近年、この硫黄原子を同族元素であるセレン原子に置換することで新たな反応性が見出されている。本稿では、これらセレンの特性を生かしたペプチドライゲーション法の進展について取り上げる。

Fig. 1 Native chemical ligation (NCL).

1. セレノシステインを利用する手法

セレノシステイン (Sec) は、Cys の硫黄原子がセレン原子に置換されたアミノ酸である。2001 年に Sec 含有ペプチド/タンパク質の合成を指向して新たなペプチドライゲーション法が、独立した 3 グループから報告された (図 2)²⁾。これは、NCL と同様の反応機構で N 末端 Sec ペプチドとペプチドチオエステルを縮合し Sec 含有タンパク質を得るというものであり、これまでに種々の Sec 含有タンパク質合成に適用されている。

その後、Sec の反応性を巧みに利用したライゲーション法が Dawson らにより報告された³⁾。すなわち、Sec-NCL によりペプチド鎖を縮合した後に室温下、ホスフィンおよびチオールを添加することでラジカル的脱セレン化が進行し、形式的にアラニン (Ala) 部位で縮合す

るという手法である (図 2)。Se-H 結合は対応する S-H 結合よりも弱いため、本手法は無保護 Cys 存在下であっても選択的脱セレン化が進行する点で特筆に値する。また、Sec の代替としてアミノ酸側鎖にセレノール基を含む人工アミノ酸を利用する NCL-脱セレン系に適用拡大され、現在までにフェニルアラニン、プロリン部位での縮合が達成されている⁴⁾。さらに、Sec 含有ペプチドをホスフィンおよび Oxone[®] で処理することで、セリンに変換可能なことも見出されている⁵⁾。最近、Sec-NCL 法を応用した酵素の化学合成が達成されるなど、今後の展開が期待される⁶⁾。

Fig. 2 Concept of Sec-NCL followed by deselenization.

2. セレノエステルを利用する手法

NCL の反応性は、チオエステル鎖の C 末端アミノ酸に大きく依存し、なかでもプロリン (Pro) チオエステルは極めて反応性に乏しいことが知られている⁷⁾。Durek らは、Pro チオエステルのアシルドナーとしての反応性の低さを克服するために、チオラートよりもセレノラートの脱離能が高いことに着目しセレノエステルを利用する手法を考案した⁸⁾。Pro セレノエステルと Cys ペプチドを、一般的な NCL 条件である 4-メルカプトフェニル

酢酸(MPAA)存在下反応させたところ、同条件下、Proチオエステルと反応させた場合と比較して33倍の反応性向上がみられた。また、MPAAの代わりにジフェニルジセレニドを添加する系においては、Proセレノエステルは対応するチオエステルの347倍の反応性を示すことが明らかとなった。本報告ではセレノエステル調製法が煩雑で難があったが、後にペプチドセレノエステルの直接固相合成法が開発され今後の応用が期待される⁹⁾。

Fig. 3 Selenoester-mediated ligation.

3. セレノシスチン・セレノエステルを組み合わせる手法

セレノール/セレノエステルは、チオール/チオエステルと比較してより高い反応性を示す。そこでPayneらは、これら化学種を組み合わせることで縮合反応がより効率化することを検討した¹⁰⁾。セレノール化合物は容易に酸化されジセレニドとして存在する。モデル実験として、N末端にセレノシスチンを有するホモダイマーとペプチドセレノエステルを中性緩衝液中で混合したところ、予期せずアミド結合で縮合した生成物が得られることが明らかとなった。数分以内に反応は完結し、嵩高いアミノ酸との間でも速やかに進行した。本反応は還元剤の添加を必要とせず、ジセレニドから直接縮合生成物が得られる点で興味深い。また、本縮合反応が完結した後に系中にホスフィンを追加することで、縮合部位のSecをAlaへと変換可能であった(図4)。

Fig. 4 Rapid additive-free (Sec)₂-selenoester ligation.

反応機構は次のように提唱されている(図5)。すなわち、ジセレニドあるいはセレノエステルのセレン原子が求核剤として作用することで、アシルジセレニウムカチオンが生じると同時にセレノラートが脱離する。このセレノラート生成が引き金となって反応が進行すると考えられるが、反応の初期段階について種々検討されたものの明確な結論は得られていないため、今後の詳細な反応

Fig. 5 Proposed mechanism of (Sec)₂-selenoester ligation.

機構解析が待たれる。

おわりに

本稿では、ペプチドライゲーションにおけるセレン原子の応用例を紹介した。セレン化合物は毒性/取り扱いの点で改善の余地があるものの、これまででなしえなかった分子変換を達成可能であるため、今後一層の応用展開が期待される。

文 献

- 1) P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. H. Kent, *Science*, **266**, 776(1994)
- 2) (a) R. Quaderer, A. Sewing, D. Hilvert, *Helv. Chim. Acta*, **84**, 1197(2001); (b) M. D. Gieselman, L. Xie, W. A. van Der Donk, *Org. Lett.*, **3**, 1331(2001); (c) R. J. Hondal, B. L. Nilsson, R. T. Raines, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 5140(2001)
- 3) N. Matanis, E. Keinan, P. E. Dawson, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 7049(2010)
- 4) (a) L. R. Malins, R. J. Payne, *Org. Lett.*, **14**, 3142(2012); (b) S. D. Townsend, Z. Tan, S. Dong, S. Shang, J. A. Brailsford, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 3912(2012)
- 5) L. R. Malins, N. J. Mitchell, S. McGowan, R. J. Payne, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 12716(2015)
- 6) P. S. Reddy, S. Dery, N. Metanis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **55**, 992(2016)
- 7) T. M. Hackeng, J. H. Griffin, P. E. Dawson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 10068(1999)
- 8) T. Durek, P. F. Alewood, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **50**, 12042(2011)
- 9) A. Ghassemian, X. Vila-Farrés, P. F. Alewood, T. Durek, *Bioorg. Med. Chem.*, **21**, 3473(2013)
- 10) N. J. Mitchell, L. R. Malins, X. Liu, R. E. Thompson, B. Chan, L. Radom, R. J. Payne, *J. Am. Chem. Soc.*, **137**, 14011(2015)

(2017年1月23日受理)

佐藤浩平 静岡大学大学院工学領域化学バイオ工学系列・助教 博士(薬科学)〔所属研究室主催者〕間瀬暢之教授
〔経歴〕2015年徳島大学大学院薬科学教育部博士後期課程修了(大高章教授)。同年4月より現職。
〔研究テーマと抱負〕ペプチド化学、タンパク質機能を自在に操る化学を確立したい。〔連絡先〕e-mail: sato.kohei@shizuoka.ac.jp