

# 立体構造を制御したペプチド活性フラグメントの高純度化学合成法

育成研究：JSTイノベーションサテライト茨城 平成20年度採択課題  
「合成ワクチン・抗体医薬「鍵物質」合成法の開発」

東京農工大学・大学院農学研究院 教授 千葉一裕



## ■ 研究概要

本技術は、従来に無い逆ミセル反応法による化学量論量高速反応の実現により、30~50段階にもおよぶペプチド鎖伸長反応を各段階ほぼ定量的に完結させ、反応毎のクロマトグラフィー分離を必要としないことを特徴とするものであり、制御が困難であった環化反応法として電解法等も導入することによって、多様な立体制御活性ペプチドフラグメントを非常に効率的に製造することを可能にした。

## ■ 研究内容、研究成果

立体構造や動的作用を制御した非天然型ペプチド分子を得ることは、タンパク質の機能解明に直接繋がると共に、ペプチド医薬品の開発にも必須の技術であり、大きな注目を集めている。しかしこれまでに機能が明らかになっている多くのタンパク質活性フラグメント部分（ペプチド）について、本来の立体構造を再現した形で作成することは極めて難しく、たとえ高い有効性が期待されるペプチドフラグメントでも、それらの物質の殆どは多段階反応による合成技術上の問題に直面し、活性測定に必要な物質を得ることすら困難なものが多い。本研究は、研究代表者らが開発した疎水性タグを用いた新しい液相ペプチド合成法を応用展開し、複雑な架橋構造や修飾基を導入した医薬品候補となる多様な非天然型ペプチドを高純度、高収率、迅速に合成する方法を開発するものである。本法は、ペプチド合成において汎用的に利用される固相合成法とは異なり、疎水性タグ上でN末端が保護されたアミノ酸の縮合反応、脱保護反応を逐次繰り返すものである。反応は均一溶液中で行うため、複雑な架橋形成反応や、電極電子移動反応など、固相法では困難とされる反応も効率よく進行する。また、ペプチド鎖伸長反応に用いるアミノ酸や縮合剤もほぼ当量使用で反応は完結し、反応溶媒も沸点の低い有機溶媒を用いることができるため、試薬や溶媒回収のコストも著しく削減できるメリットがある。この研究開発によって非天然型分子内架橋を有する多数のペプチド高純度品のグラムスケール合成を達成した他、新たな架橋形成法、修飾基導入方法、ペプチド分離精製方法を実用レベルで開発することに成功し、ペプチド医薬品候補物質の探索合成や実用化生産に向け大きく道を拓くことができた。

## ■ 今後の展開、将来の展望

ペプチド医薬品開発の「核」となる、新規活性候補物質群（立体構造制御活性フラグメント）ならびにその製造技術をコアコンピタンスとして事業化を行う。これまで開発途中で候補から落ちていた有効物質の再活用他、新規物質の効率的な探索を推進するキーテクノロジーになる革新技術である。従来技術（固相合成法、液相合成法）より低コスト、低エネルギー、有害溶媒の使用量大幅削減、副生成物の生成抑制、試薬使用量の極限的削減などを実現することができるため、産業応用のメリットが大きく、医薬品製造業界からの評価も高い。今後さらに、国内外の製薬企業、化学メーカーと連携し、ターゲット物質ごとに製造法を共同開発することを計画している。本技術は非天然型ペプチドの多様化と大量製造の実現に非常に重要な役割を担うと考えられ、ペプチド医薬品の拡大に貢献することが期待される。

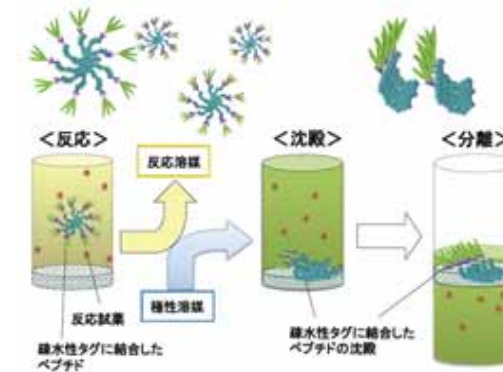


図1 疎水性タグを用いたペプチド液相合成法。疎水性タグの作用により逆ミセルを形成したペプチド分子を逐次伸長させる。極性溶媒の添加によって生成物が選択的に沈殿するため、反応・分離・精製のプロセスを迅速に行うことができる。

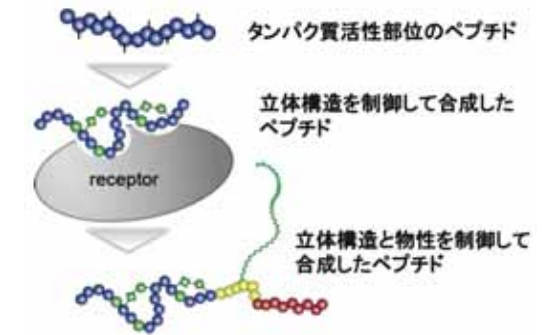


図2 タンパク質活性部位をモデル化したペプチド。分子内架橋による立体構造制御の他、親水性、疎水性置換基を導入し、溶解性や物性を制御する。

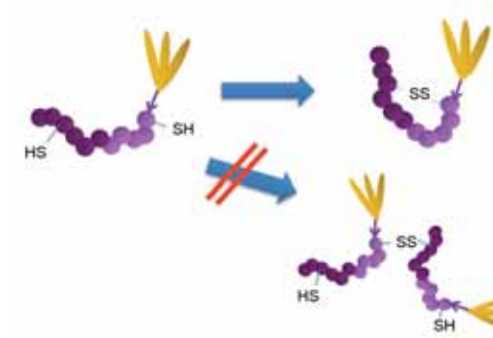


図3 疎水性タグを利用した分子内架橋形成反応。分子内S-S結合形成等、分子内環化反応を優先的に進めることができる。

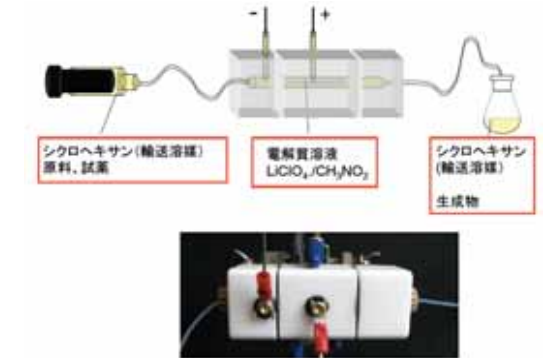


図4 フロー電解反応装置。疎水性タグに結合したペプチドの電気化学修飾に用いる。

## ■ 研究体制

- ◆ 代表研究者：東京農工大学 農学部・応用生物科学科 教授 千葉一裕
- ◆ 研究者：菅井正枝(東京農工大学)、河野 悠介(JITSUBO(株))、渡瀬進一郎((株)AUC)ほか
- ◆ 共同研究機関：JITSUBO(株)、(株)AUC、農工大ティー・エル・オー(株)

## ■ 研究期間

平成21年4月 ~ 平成24年3月