P201

キトビオースユニットを有するEmmprinの細胞外第一Igドメインの合成

東海大・工：○北條裕信、中原義昭、理研：中原悠子、伊藤幸成、宮崎医大：鍋島一樹

[目的] Emmprinは、ガン細胞から見いだされた膜結合性タンパク質であり、ストローマ細胞のコラーゲナーゼの産生を誘導する。その活性の発現には、一つのN結合型糖鎖を有する細胞外第一Igドメインが必要である。本研究では、このドメインの機能に対するN結合型糖鎖の役割を解析するため、キトビオースユニットを有するEmmprin第一Igドメインの化学合成を行ったので報告する。

34 ↓ 94
GSKILLTCSLNDSATEVTGHRWLKGGVVLKEDALPGQKTEFKVDSDDQWGEYSCVFLPEPM

図1.Emmprinの第一Igドメインのアミノ酸配列とセグメント縮合部位.

[方法と結果] Asnに結合したキトビオースは、HF等の強酸にも比較的安定であることが報告されている。そこで、Boc法での合成に適するキトビオースAsn誘導体**1**を合成することとした。ついで、このユニットを用いてチオエステル法によるIgドメインの合成を行った。Boc-Gly-SCH_2CH_2CO-Leu-OCH_2-Pam樹脂を出発物質として合成機によりBoc-アミノ酸を順次縮合した後、HF処理を行い、(34-58)のセグメントを得た。なお、**1**の導入は、DCC-HOBtを用いてマニュアル固相法にて行った。ついでアミノ基にBoc基を導入して、目的とする(34-58)のユニットへと誘導した。一方、(59-94)のセグメントは、Link-amideMBHA樹脂上で、Fmoc-アミノ酸を用いる通常の固相法により合成した。得られた**2**、**3**の2つのセグメントを図3の要領で縮合し、目的とするIgドメインを合成した。

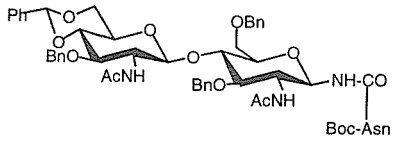


図2.固相合成に使用したキトビオースを有するAsn誘導体 **1**.

Boc-[Cys(Acm)^{44}, Lys(Boc)^{36,57}]-Emmprin (34-58)-SCH_2CH_2CO-Leu **2**
+
[Cys(Acm)^{88}, Lys(Boc)^{63,71,75}]-Emmprin(59-94)-NH_2 **3**
↓ 1) AgCl, HOOBt, DIEA / DMSO, 2) TFA
[Cys(Acm)^{44,88}]-Emmprin (34-94)-NH_2
↓ 1) $AgNO_3$, DIEA / DMSO, 2) DTT, HCl, 3) RPHPLC
linear Emmprin (34-94)-NH_2
↓ 1% $AcONH_4$ containing 20% DMSO
Emmprin (34-94)-NH_2

図3.Emmprin第一Igドメインの合成ルート.

P202

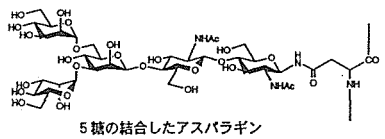
N－結合型糖鎖を有する糖ペプチドの固相合成：gp120-V3ループの合成研究

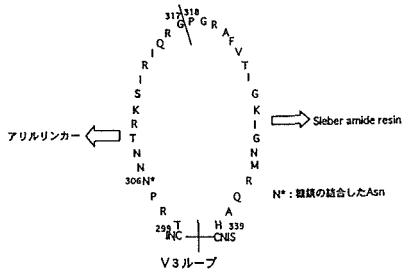
久保一介[1]、北條裕信[1]、中原義昭[1,2]、中原悠子[2]、伊藤幸成[2]
([1]東海大・工、[2]理研)

【目的】N－結合型糖鎖を有する糖ペプチドとして、V3ループの合成を試みた。V3ループは、HIV-1ウイルスの表面上に存在する外被タンパク質gp-120のセグメント(299-339)である。HIV-1ウイルスのT細胞への感染は、T細胞上のCD4分子にgp-120が結合することにより始まる。gp-120の3番目の可変領域であるV3ループは、主要中和領域として知られるがウイルス感染に際しても重要な役割を担うことが示唆されている。このV3ループ中のAsn^{306}にN－結合型糖鎖が存在する。

【方法と結果】N－結合型糖鎖として、高マンノース型、複合型、混成型すべてに共通の5糖を用い、C末端側の318-339と、糖鎖を含むN末端側の229-317の2つのブロックに分けて合成を行うこととした。C末端側は、Sieber amide resinを用いたFmoc法で合成した。N末端側は、糖鎖部分に酸に弱いβマンノシド結合を含むため、酸を用いずに緩和な条件で樹脂から切り出すことが可能なAllylリンカー[1]を用いることとした。

5糖の結合したアスパラギンは38工程で得た[2]。この糖アミノ酸を用い、ペプチドを伸長する条件を検討中である。





【文献】1 Y. Nakahara, S. Ando, M. Itakura, N. Kumabe, H. Hojo, Y. Ito, Y. Nakahara, *Tetrahedron Lett.*, 41(2000) 6489-6493.
2 I. Matsuo, Y. Nakahara, Y. Ito, Y. Nukada, Y. Nakahara, T. Ogawa, *T. Bioorg. Med. Chem.*,1995, 3, 1455.