

フロー法により合成されるペプチド鎖長のモニタリングに必要な近赤外バンド帰属の確立

【代表者】 石垣 美歌 島根大学 戦略的研究推進センター 助教

【共同研究者】 山本 達之 島根大学 生物資源科学部 教授
ヘマンス ヌータラパティ
島根大学 研究推進室 助教
青木 薫 米子工業高等専門学校 教授

【研究の目的と内容】

環状特殊ペプチド（天然以外のアミノ酸を含む環状のペプチド）が、抗体に代わる新たな薬剤として近年注目を集めている。特殊ペプチドは、分子量が抗体と比べて数十分の一であるため合成が容易であり、抗原特異性と標的特異性に優れている一方で、特殊ペプチドは立体障害が大きいため、化学合成が困難（通常の 100 倍と言われている）という問題点も抱えている。困難な化学合成を実現するためには、合成を逐次確認することが最も重要で、そのためにフロー合成法を用いて、溶液中で反応を段階的に進めながら、その反応をリアルタイムモニタリングする手法の開発が求められている。

フロー法によるペプチド合成をモニタリングする手法の候補として、本研究では近赤外分光法を用いた。合成反応をモニタリングするためには、アミノ酸由来の近赤外吸収バンドの帰属を行い、特にペプチド結合由来のバンドを特定する必要がある。そこで本研究では、最もシンプルな分子構造を持つアミノ酸としてグリシンをターゲットとし、近赤外吸収スペクトルの分析を行った。水溶液の pH 依存的に変化するバンドや、鎖長変化に伴うバンドを導出することにより、アミノ酸由来の近赤外バンドを帰属することを目指した。

【研究の成果（本研究によって得られた知見、成果、論文、学会発表、外部資金への応募見込み等）】

グリシン水溶液の pH を 0.2~14 に変化させ、各サンプルの近赤外吸収スペクトルを取得した。その結果、pH に依存して変化するバンドが複数確認できた。例えば、アルカリ性のときにのみ 4960, 4730, 4550 cm^{-1} にバンドが現れ、中性及び酸性ではこれらのバンドが見られなかった（図 1a）。そのため、これらのバンドは NH_2 由来のバンドであることが示唆された。また、液性が変化しても共通して現れたバンド（4430, 4320 cm^{-1} ）は CH 由来のバンドであることも確認できた（図 1b）。

次にグリシンペプチド（2(G2), 3(G3), 4(G4)量体）の近赤外スペクトルも取得した。その結果、鎖長が長くなると 2 次微分スペクトル強度が 4630, 4430, 43230 cm^{-1} で強くなることが確認できた。ペプチド鎖長が長くなるにつれてペプチド結合及びメチル基の数が増え

るため、 4630 cm^{-1} はペプチド由来であることが確認できた。

最後に、異なる液性におけるグリシンのバンドを、量子化学計算によって求めた。その結果、アルカリ性で $4900, 4750, 4650\text{ cm}^{-1}$ 付近に吸収バンドが現れ、酸性ではそれらのピークが現れないことが確認された。以上の液性変化によるスペクトル解析と量子化学計算により、ペプチド由来のバンドが 4630 cm^{-1} 付近に現れることが分かり、このバンドを使って、ペプチド合成反応をリアルタイムにモニタリングできる可能性が示唆された。

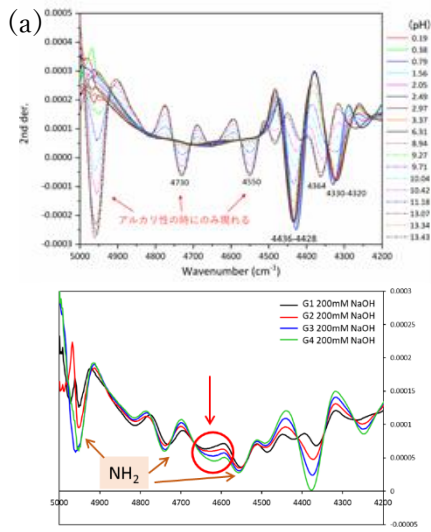


図 1: 近赤外 2 次微分スペクトル ($5000\text{--}4200\text{ cm}^{-1}$). (a) グリシン(G1), (b) G1, G2, G3, G4.

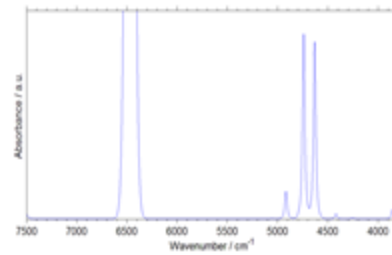


図 2: アルカリ性でのグリシン近赤外吸収スペクトルの量子化学計算.