



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.109

2018年7月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<https://www.peptide-soc.jp/>

会長就任の挨拶 —新ペプチド科学への協働—

2018年4月に前期の赤路健一会長（京都薬科大学）を引き継ぎ、第15期日本ペプチド学会会長に選任され、就任いたしました。今期2年間の学会の活動に皆様と一緒に誠意尽力いたしますので、よろしくお願いいたします。



三原 久和

思い起こすと、1980年に卒論研究について際ペプチドを専門とする理学部化学科生物化学講座に配属されて以来、40年近くペプチド科学に魅了され携わらせていただき、その学問としての恩恵をたくさん受けていることに感謝の気持ちでいっぱいです。卒研・大学院生である頃、国内では液相法によるペプチド合成が主流の時代でした。DCC法や活性エステル法、無水物法、アジド法等の歴史、生理活性ペプチド等が如何に合成され、その成功者が世界的な著名人になってきたか等、先生方や先輩方から昼夜関係なく（酒の席も含めて）薫陶を受けて、ペプチドの世界への思いを強くしていきました。当時も海外の招待研究者が毎年参加されるペプチド化学討論会は、（私のような純粋な？）若手には非常に興奮する場がありました。

現在のペプチド科学を取り巻く環境は生命科学の急激な発展により、この30～40年で激変し続けてきています。固相法の発展による合成法の進展、コンビナトリアル（ライブラリー）化学の興隆、分子生物学的手法の発展、ゲノム科学の飛躍的進展からバイオ医薬、中分子創薬、コンピューター支援設計、バイオマテリアル領域への展開等、科学技術の進歩が領域の拡大とも直結してきています。またペプチド合成機やHPLC、質量分析計、NMR等分析機器とその研究の発展も欠かせません。近年生物ゲノムも編集だけでは物足りず、全合成して新細胞・生物を産生する合成生物学（ゲノムライト手法）が進展している時代です。様々な新分野とも関連するペプチド科学への期待とその役割、さらにはペプチド科学が貢献できる範囲はますます拡大していくことでしょう。

一方、科学とそれを取り巻く社会は、インターネットの発展から驚くべき勢いでグローバル化が進んでいます。40年前は若手が海外で発表することはほぼ困難な時代でしたが、今は学生含む若手研究者がどんどん海外の学会に出向き切磋琢磨されています。図

書館にある論文誌から情報を獲得していた時代から、インターネットによりどこからでも莫大な情報を即座に獲得でき、科学技術の戦略と政策は欧米に追いつけ追い越せの時代から、アジア諸国とも肩を並べて協働する時代となりました。このような背景の中で国際的には学生や若手研究者が向いている（望んでいる）世界が大きく変遷してきています。

この科学環境の広がりや変化速度が大きな時代においての学会の役割も、おのずと変わっていかねばならないと考えています。研究成果の発表と討論、研究者交流の場の提供は学会の本質であります。そこでの国際的な交流、とくにアジア圏内での学術的交流は非常に重要です。日本がリードしての交流推進はすでに過去のものであり、いろいろな協働関係の機会増加や方策の構築が重要です。その場に若い層の研究者が活躍していない学会は活力が低いものとなるでしょう。

現在日本ペプチド学会の運営は、年齢が比較的高い層が役割を果たしていますが、若手の層からいろいろなご意見等を頂いたり、場への参加もして頂いて、本学会が学術面でも組織面でも活力がある学会としてサステナブルな状況になっていく必要があると思います。当たり前ですが、学会は会員皆様のものであります。皆様と一緒に学会のサステナビリティと発展を図っていきたくと思っています。2018年は、第10回 International Peptide Symposiumが8年ぶりに京都において開催されます。皆様のペプチド科学と学会におけるご協働をよろしくお願いいたします。

みはら ひさかず
東京工業大学生命理工学院
hmihara@bio.titech.ac.jp

10th International Peptide Symposium のロゴを決定しました

〔作成の意図〕医薬品の基本骨格としても用いられるベンゼン環をモチーフとしています。ベンゼン環で表現した「10th」の中にある「IPS」の太い字体は、第10回目を迎える“伝統”と“信頼感”を象徴しています。



意匠考案者
平田 晃義氏
(ハイペップ研究所)

マイクロフロー合成法を駆使する高効率・低コスト ペプチド生産手法の開発を目指して

1. はじめに

まず初めに本ニュースレターに寄稿させていただく機会を与えてくださった京都大学大学院薬学研究科の大石真也先生に感謝申し上げます。自己紹介に加えて過去 10 年弱にわたって取り組んできたマイクロフローアミド結合形成法の開発について紹介させていただきます。筆者は、2005 年 3 月に東京工業大学大学院理工学研究科応用化学専攻の高橋孝志教授のもとでタキソールの化学的全合成および自動合成により学位（工学）を取得し、高橋先生が創設されたベンチャー企業（ChemGenesis 社）で研究員として約一年間勤務しました。2006 年 5 月から 2008 年 2 月までハーバード大学化学・化学生物学科の Daniel E. Kahne 教授の研究室で博士研究員として留学させていただき、抗生物質モエノマイシン類縁体の設計・合成・抗菌活性評価、生体標的分子との結合様式解明に従事しました。2008 年 3 月より高橋先生の研究室の助教として採用して頂き、天然物およびその類縁体の合成手法開発、 π 共役系分子の設計、合成、評価、マイクロフロー合成法の開発といった多岐にわたる研究テーマに携わる機会を得ました。マイクロ



布施 新一郎

フロー合成法開発は当時准教授であった土井隆行先生（現東北大学薬学研究科教授）が高橋・土井研究室で開始されたテーマであり、これを引き継ぐ形で担当させていただくことになり、今に至っております。

2. 中分子ペプチドの低コスト生産法開発の重要性

ペプチド医薬品は、抗体医薬品の副作用リスクの低さと、低分子医薬品の生産コストの低さや経口投与を可能にする点および細胞内の生体分子を標的とできる点等、双方の長所を併せもつと考えられていることから、近年脚光を浴びている。特に 2012 – 2016 年に FDA により承認されたペプチド医薬品のうち約 9 割は 15 残基未満のアミノ酸から構成されており、いわゆる中分子ペプチドが医薬品として重要である¹。長鎖ペプチドの生産は現在でも固相合成法が唯一の選択肢であるが、樹脂のコストが高いため、低コスト生産は困難である。一方で、中分子ペプチドの生産にはより低コストな液相合成法も選択肢に入る。このため、Lonza や Bachem といった世界トップのペプチド受託合成企業はつい最近、これまでの反応釜（150 – 300 L が最大）を一気にスケールアップし、最大 2,500 L もの反応釜を構築してスケールアップ合成を行うことによりコストカットを図っている²。さて、ペプチド合成は既に解決すべき課題が残っていないとの誤解を与えがちであるが、実際のところ、ペプチド合成で最も重要なアミド化では大量の廃棄物を生じ、過剰量の高価な縮合剤を要する点が問題となっている³。また、ラセミ化しや

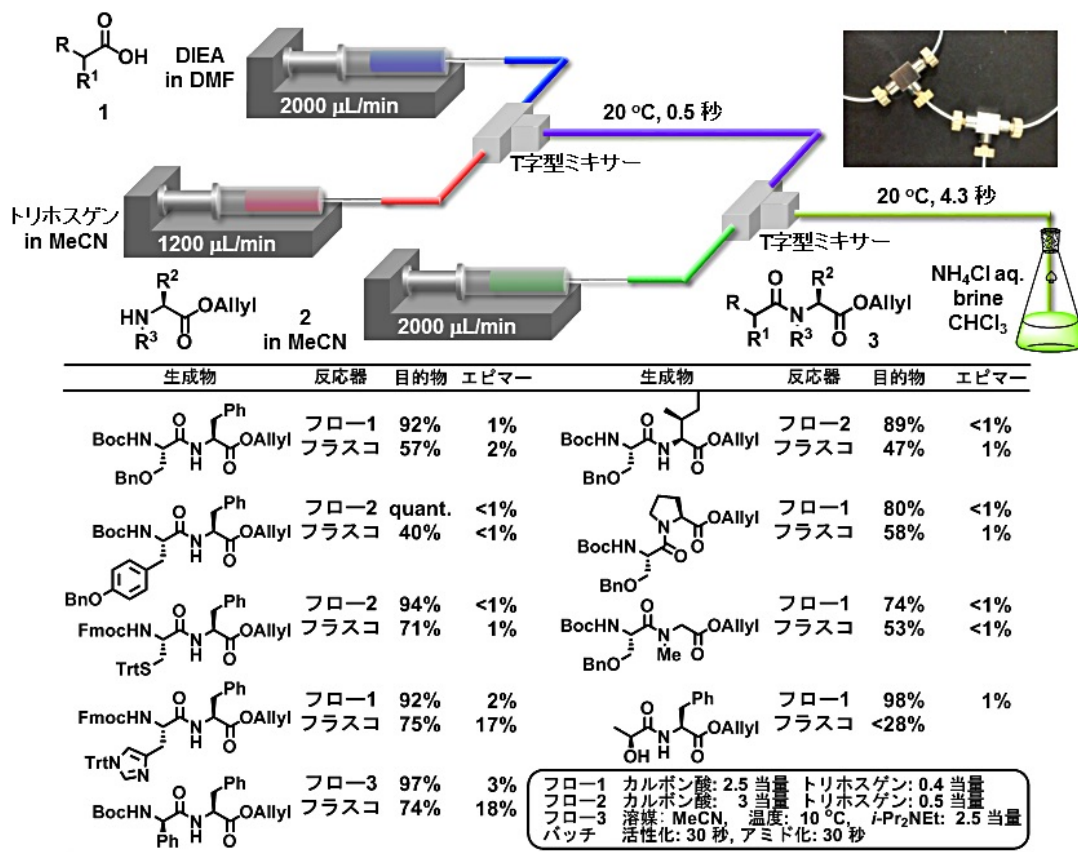


図1 マイクロフローアミド化反応の基質適用範囲の検討

すいアミノ酸や嵩高いアミノ酸の高収率での連結は未だ重要な課題となっている。実際に過去 15 年間、米国製薬企業の特許で報告された縮合剤によるアミド化の平均収率は年々下降し続けている⁴。これらの点の根本的解決を避けて、単純に反応釜のスケールアップに頼る手法が真の効率的なペプチド合成につながるのかという点に筆者らは疑問を抱いている。この背景のもと、筆者らはマイクロフロー法を駆使して、独自のアミド化反応を開発し^{5,6}、これを用いて抗 HIV・抗菌ペプチド天然物フェグリマイシンの全合成を達成したので紹介する⁷⁻⁹。

3. マイクロフローアミド結合形成法の開発

従来の高価な縮合剤に依存するアミド化法はカルボン酸の穏やかな活性化によりラセミ化を回避する点を特長とする。我々の手法はこれとは逆に、カルボン酸を強力かつ迅速(< 1 秒)に活性化して、ラセミ化を抑制しつつ高速でアミド結合を形成する点を特長とする。本手法で鍵を握るのはいかに活性種の滞留時間(< 1 秒)を正確に制御するかという点である。フラスコを用いたバッチ反応条件では前述の通り、溶液の混合時の分子拡散に通常、数秒以上を要するため、1 秒未満の反応時間を正確に制御することは不可能である。一方で、マイクロミキサーを用いる高速混合により、この制御を実現可能である。図 1 に示す通り、カルボン酸 **1** と DIEA の溶液とトリホスゲンの溶液を、それぞれシリンジポンプを使用して一つ目の T 字型ミキサーに導入し、わずか 0.5 秒でカルボン酸を活性化させた。続いて、生成させた活性種の溶液と求核剤 **2** の溶液を二つ目の T 字型

ミキサーに導入し、4.3 秒でアミド結合を形成させて目的のジペプチド **3** を得た。開発した本手法は、図 1 下に示す通り、多様なアミノ酸の連結に適用可能であった。本法の特筆すべき点として、システイン、ヒスチジン、フェニルグリシンといった非常にラセミ化を起こしやすいアミノ酸も高収率で連結できる点が挙げられる。

4. フェグリマイシンの全合成

ラモプラニン、バンコマイシンといった重要な抗菌活性天然物は置換フェニルグリシンをその構造中に有し、これらの残基が生物活性発現に重要な役割を担っていると提唱されている¹⁰。しかしながら、フェニルグリシンはアラニンと比較して 60 倍ラセミ化を起こしやすいと報告されており¹¹、フェニルグリシン含有ペプチドの合成は挑戦的な課題となっている。筆者らは、開発した手法の有用性を実証すべく置換フェニルグリシン含有 13 残基ペプチドフェグリマイシン (**4**) の全合成に取り組むこととした(図 2)。本化合物は 1999 年に単離構造決定され、抗 HIV 活性と抗菌活性をもつことが報告されている¹²。**4** は分子内に 5 つも 3,5-ジヒドロキシフェニルグリシン(Dpg)を有する。Dpg はフェニルグリシンと比較してさらにラセミ化を起こしやすいことが知られており、天然に存在するアミノ酸の中で最もラセミ化しやすいアミノ酸の一つである。近年、20 残基未満の中分子ペプチドは医薬品候補化合物としてますます重要性を増していることから **4** の合成は筆者らの手法の有用性を実証する題材として好適と考えた。なお、過去に唯一、Süssmuth らのグループによる全

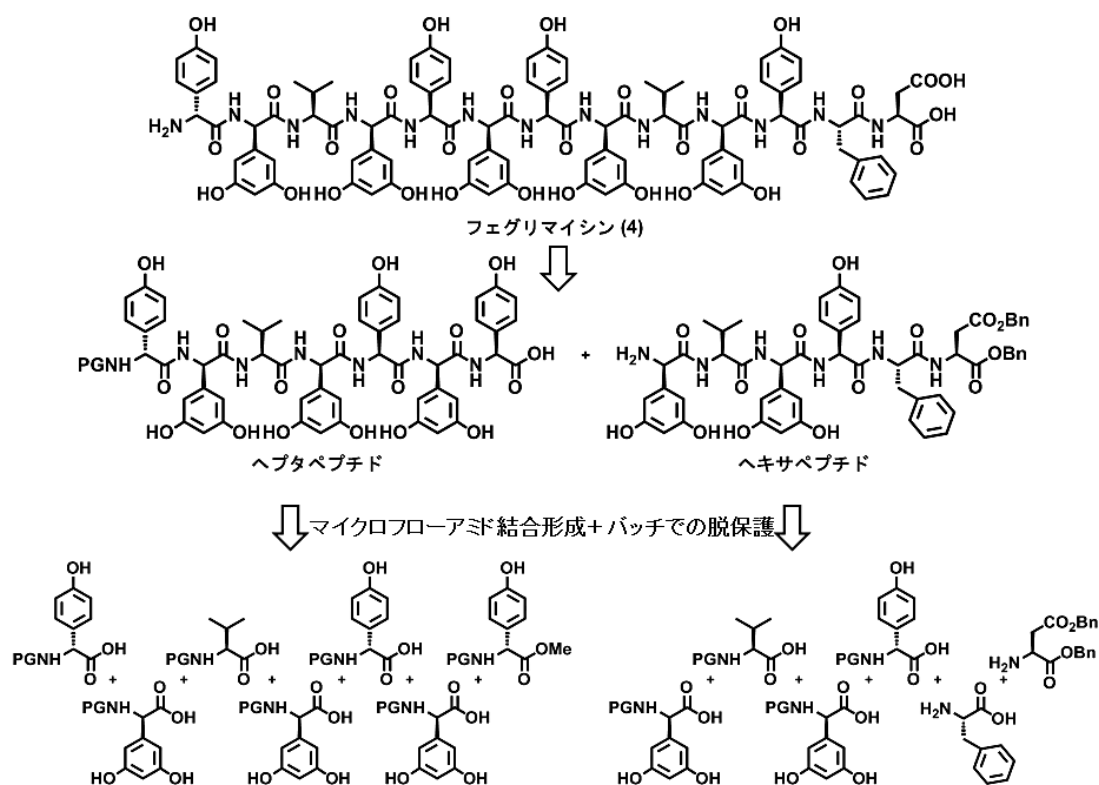


図2 フェグリマイシン (**4**) の合成計画

合成が報告されている¹³。筆者らの立案した合成計画を図2に示す。すなわち、C末端側からペプチド鎖を1残基ずつ伸長してヘキサペプチドとヘプタペプチドをそれぞれ合成し、終盤でこれらをカップリングして全合成しようと考えた。

本計画は中分子ペプチドの合成において最も一般的かつ効率的とされる手法に基づくが、Süssmuthらはこの計画に基づく全合成は不可能であると報告している。すなわち、SüssmuthらはC末端側から1残基ずつペプチド鎖を伸長させた際に、Dpgの連結において、いずれの条件を用いてもラセミ化を回避できなかった。このため最もアミド化が容易な合成初期で、まずDpgを隣接するアミノ酸と連結してジペプチドおよびトリペプチドを調製した。なお、このアミド化においても特殊な縮合剤を用いて長時間低温で反応させないとラセミ化が起こることを報告している。その後、合成したジペプチドおよびトリペプチドを順次連結することにより全合成を達成した。一方で筆者らは、Süssmuthらが不可能と結論した1残基ずつのペプチド鎖伸長を、一切特殊な縮合剤を用いずに短時間で実現させようと考えた。なお、本合成においてフェノール性水酸基は遊離のままペプチド鎖を伸長しようと計画した。ここで、課題となるのは、反応系中に存在する塩基（DIEAおよび求核剤となるアミノ酸）がフェノール性水酸基のプロトンを捕捉し、フェノキッドを生じることにより起こるエステル化反応である。これを防ぐため、使用するDIEAの量をカルボン酸と同量に抑えることとした。また、求核剤となるアミン共役酸のpKaが7.5

–8.5程度である一方で、フェノール性水酸基のpKaが9–10程度であることから、求核剤による水酸基のプロトン捕捉は起こらないものと推測した。

さて、ペプチド鎖伸長時にアミノ酸の窒素原子上の保護基はラセミ化に大きな影響を及ぼす。このことから、モデル基質**5**および**6**を用いて、様々な溶媒中、温度条件下で、窒素原子上の保護基（PG）が収率、ラセミ化に及ぼす影響を調べた（図3）。その結果、Cbz基を用いるentry 3と5の条件、およびAlloc基を用いるentry 7と8の条件がラセミ化を抑制しつつ目的物を高収率で与えることがわかった。なお、望まないエステル化反応は期待通り抑制できた。

Alloc基をもつアミノ酸はCbz基をもつアミノ酸と比較して各種溶媒に対する溶解性に優れていたため、1残基ずつのペプチド鎖伸長時にはAlloc基をもつアミノ酸を使用し、N末端側のアミノ酸**14**のアミノ基はCbz基で保護することにより、最終段階でC末端側のベンジル基と同時に除去することとした。以上の基質、反応条件により検討した結果、ラセミ化やエステル化を抑えつつ、これまで不可能とされてきた1残基ずつのペプチド鎖伸長を実現し、ヘキサペプチド**15**およびヘプタペプチド**16**の合成に成功した。続いてSüssmuthらの報告に従い、得られた**15**および**16**を連結することにより、フェグリマイシンの全合成を達成した（図4）。

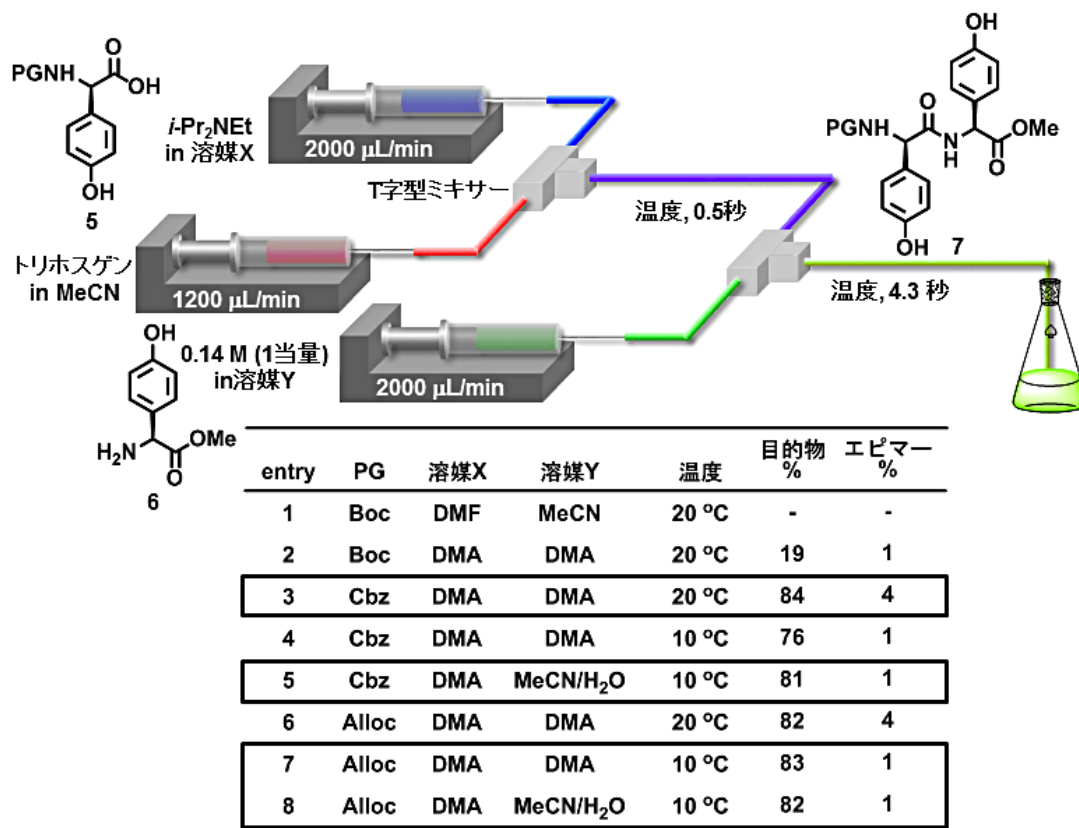
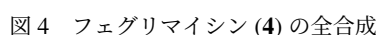


図3 窒素上の保護基がラセミ化に与える影響

本稿で紹介したマイクロフロー合成法は対称酸無水物が活性種として生じていることがわかっており、求核剤として用いるアミノ酸に対して、カルボン酸を最低2当量以上要する欠点を有していました。これに対して最近筆者らは混合炭酸無水物を經由してアシルピリジニウムカチオンを生成させ、これをアミド結合形成に用いる第二世代法を開発しました。さらに、つい最近、ポリペプチドの原料である α -アミノ酸-*N*-カルボキシ無水物(NCA)の高効率マイクロフロー合成法の開発にも成功しました。これらの結果についても近い将来、ご紹介できればと思います。

末筆ながら、現在の研究室で存分にマイクロフロー合成を推進する機会を与えてくださっている東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究の中村浩之教授、および本誌ニュースレター編集委員の先生方に厚く御礼申し上げます。

1. Santos, G. B.; Ganesan, A.; Emery, F. S. *ChemMedChem* 2016, 11, 2245–2251.
2. Mullin, R. *Chem Eng News* 2015, 93(17), 16–19.
3. Pattabiraman, V. R.; Bode, J. W. *Nature* 2011, 480, 471–479.
4. Schneider, N.; Lowe, D. M.; Sayle, R. A.; Tarselli, M. A.; Landrum, G. A. *J Med Chem* 2016, 59, 4385–4402.
5. Fuse, S.; Tanabe, N.; Takahashi, T. *Chem Commun* 2011, 47, 12661–12663.
6. Fuse, S.; Mifune, Y.; Takahashi, T. *Angew Chem Int Ed* 2014, 53, 851–855.
7. Mifune, Y.; Fuse, S.; Tanaka, H. *J Flow Chem* 2014, 4, 173–179.
8. Fuse, S.; Otake, Y.; Mifune, Y.; Tanaka, H. *Aust J Chem* 2015, 68, 1657–1661.
9. Fuse, S.; Mifune, Y.; Nakamura, H.; Tanaka, H. *Nat Commun* 2016, 7, 13491.
10. Al Toma, R. S.; Brieke, C.; Cryle, M. J.; Süssmuth, R. D. *Nat Prod Rep* 2015, 32, 1207–1235.
11. Smith, G. G.; Sivakua, T. *J Org Chem* 1983, 48, 627–634.
12. Vértesy, L.; Aretz, W.; Knauf, M.; Markus, A.; Vogel, M.; Wink, J. *J Antibiot* 1999, 52, 374–382.
13. Dettner, F.; Hänchen, A.; Schols, D.; Toti, L.; Nußer, A.; Süssmuth, R. D. *Angew Chem Int Ed* 2009, 48, 1856–1861.



ふせ しんいちろう
東京工業大学 科学技術創成研究院
化学生命科学研究所 中村・布施研究室
sfuse@res.titech.ac.jp
http://syn.res.titech.ac.jp/

触媒的不斉反応による非天然アミノ酸 及びペプチド合成

徳島大学薬学部助教の猪熊と申します。このたび京都大学の石先生から本ペプチドニュースレター記事執筆のご依頼をいただき、寄稿させていただきましたこととなりました。このような機会をいただくことができましたことを光栄に思っております。



猪熊 翼

筆者は京都大学薬学部の竹本佳司教授の指導のもと、チオ尿素に代表される水素結合を利用した有機分子による新規触媒的不斉反応の開発に取り組み、2011年に博士の学位を取得いたしました。2012年より留学の機会を得ることができましたので米国スクリプス研究所 Carlos F. Barbas III 教授の研究室でタンパク質の新規修飾反応開発と新規治療薬創製を視野に入れた応用研究に従事しておりました。実はこの時点まで筆者はペプチド研究には関わっていなかったのですが留学を終えた2013年に、幸運なことに徳島大学大高章先生の研究室に特任助教として赴任する機会に恵まれ、ここからペプチド分野での研究をスタートすることとなりました。現在は、同じ徳島大学薬学部の山田健一教授の研究室で再び触媒的不斉反応の開発に研究の軸足を戻し研究活動に携わっております。ペプチド分野に関連する内容として非天然アミノ酸及びそれを含む

ペプチドを合成する新規方法論開発を行っておりますので、本記事では筆者が最近取り組んでおります触媒的不斉合成によるそれらの合成研究についてご紹介したいと思います。

1. 非天然アミノ酸の合成

非天然アミノ酸は興味深い生物活性を有する化合物に幅広く見られる共通骨格であり新規医薬品のシード物質となるだけではなく、キラル合成素子としての利用も期待される魅力的な化合物群です¹。本骨格構築法開発にはこれまでに多くの有機合成化学者が携わっており、その過程で様々な方法論が開発されてきました。その中でも α -イミノカルボン酸誘導体と各種求核剤との不斉1,2-付加は、求核剤の構造を変更するのみで多様な側鎖構造のアミノ酸合成へと展開できるため、新規有用物質を創出するという観点から非常に強力な方法論の一つです(図1)²。

しかし実際のところ、これまでの研究はそのほとんどが原料の入手可能性の問題でカルボン酸誘導体部位としてエチルエステル構造のもの(図1でX=OEt)を用いた反応に限られていました。筆者はエチルエステル以外のカルボン酸誘導体構造を持つ基質を容易に合成できるようになればアミノ酸合成の幅が大きく拡充されるものと考え、原料であるイミノカルボン酸誘導体の合成法について検討を行うこととしました。

イミンを合成する最も一般的な手段は、アルデヒドと第1級アミンの脱水反応であり、 α -イミノエステル**1**も対応するアルデヒドであるグリオキサレート**2**を用いることで調製可能です(図2-A)。しかし**2**は不安定であり室温で速やかに重合するため**1**を調製する際には、市販されている**2**の重合体を使用時に熱分解し単量体とした後蒸留精製して得られる画分を、重合する前にちょうど1当量の第1級アミンと反応させる必要がありました。また**2**は酸性条件に不安定であり一般的なシリカゲルカラム精製に耐えられず、上記の反応で得られる粗生成物をその

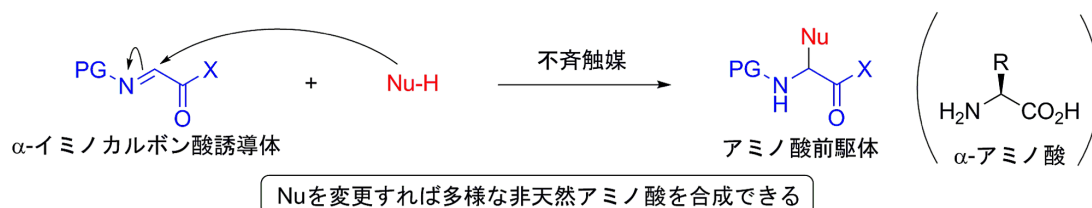


図1 α -イミノカルボン酸誘導体を用いたアミノ酸の不斉合成

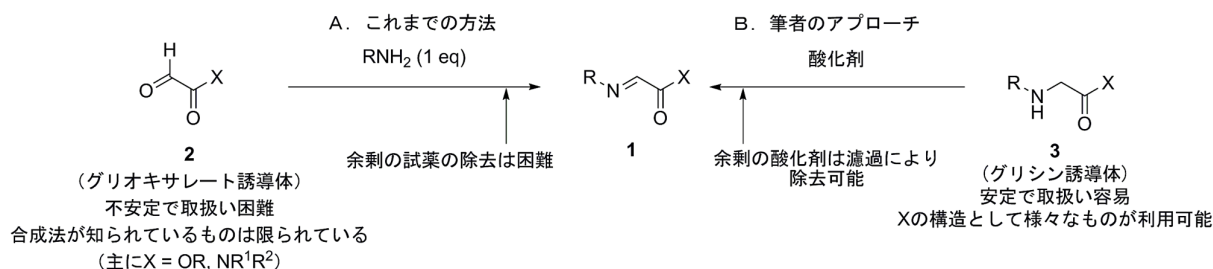


図2 α -イミノカルボン酸誘導体の調製

まま不斉 1,2-付加反応に用いるため、調製したロット間での品質にばらつきが生じる可能性があります。また、大部分の前駆体アルデヒドはその合成法が確立されていません。

筆者は、不安定で取扱い困難な前駆体アルデヒドの利用を避けるためにイミン合成の手段としてアミンの酸化反応に着目しました。すなわち N 末端が保護されたグリシン誘導体 **3** を酸化することでイミンを合成できれば、安定な原料であるグリシンの C 末端側を変化させることで様々な α -イミノカルボン酸誘導体 **2** を合成できると期待しました (図 2-B)。また、得られるイミン類は酸に対して不安定であるためシリカゲルカラム精製に付すことはできませんが、この問題に対しては不均一系反応の利用で解決を図ることとしました。なお不均一系反応とは使用する試薬が反応溶媒中に溶解しない反応を指します。当該形式の反応では、反応終了後濾過操作で試薬を除去できるので、原理上反応が定量的に進行すれば目的物の単離を濾過のみで行うことが可能です。以上をふまえ筆者は多様な α -イミノカルボン酸類を容易に調製可能とする新たな不均一系酸化反応の開発に着手いたしました³。

一般的な有機溶媒に不溶であり安価な二酸化マンガンを酸化剤として用い種々のグリシン誘導体 **3** の酸化反応を検討しました (表 1)。N 末端が *p*-メトキシフェニル (PMP) 基で保護されたグリシンエステル **3a-e** は二酸化マンガンによって容易に酸化され、反応終了後に濾過するのみで高純度のイミノエステル **1a-e** を得ることができました (entries 1-5)。本法はエステル以外にもアミド **1f** および **1g** (entries 6-7)、酸性度の高いアルコールとのエステル **1h-j** やチオエステル構造を有するイミン **1k** の合成にも適

用可能でした (entries 8-11)。それだけではなく分子内にルイス塩基部位を複数有するイミド体 **1l** および **1m** の合成にもあわせて成功しました (entries 12-13)。これらの化合物はその多くが対応する前駆体アルデヒドの合成がこれまでに報告されておらず、本法を利用して初めて合成できた新規化合物です。

次に、得られたイミンを用いて不斉 1,2-付加による非天然アミノ酸合成に展開しました。不斉触媒として広く用いられているキラルチオ尿素 **4**⁴ を用い、酸性度の高いプロトンを持つ炭素求核剤 **5** との不斉 1,2-付加を検討しました (図 3)。詳細は省略しますが、検討の結果本反応は 5 員環イミド構造を持つイミン **1m** を用いることで良好に進行し、良好な収率且つ高いエナンチオ選択性で目的の非天然アミノ酸 **6a** を与えることが分かりました。なお基質としてこれまでに広く利用されていたエチルエステル体 **1a** を用いて同反応を行うと、対応する付加体 **6b** はほとんど得られず、立体選択性もイミド体 **1m** を用いた場合と比較して劣る結果となりました。本反応でイミド構造を持つ基質 **1m** が良好な結果を与えた理由は現段階で不明ですが、基質中に 2 つ存在するカルボニル基が不斉触媒との何らかの相互作用に寄与しているのかもしれません。

今回検討した不斉反応では 5 員環イミド構造を有するイミン **1m** が最も良い結果を与えましたが、適用する反応を変えるとそれに応じて最適な基質も異なるものと思われます。筆者が開発した多様なイミノカルボン酸誘導体合成を可能とする酸化反応は、非天然アミノ酸の不斉合成における有用な合成素子を提供する強力な手段となると考えています。現在これら種々のイミノカルボン酸誘導体を利用した新

表 1 二酸化マンガ酸化による α -イミノカルボン酸誘導体の合成

$\text{PMP}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{X} \xrightarrow[\text{CH}_2\text{Cl}_2, \text{rt, 30-60 min}]{\text{MnO}_2 (20 \text{ equiv})} \text{PMP}-\text{N}=\text{CH}-\text{C}(=\text{O})-\text{X} \quad (\text{PMP} = \text{MeO}-\text{C}_6\text{H}_4-)$									
エントリー	X	3	1	1の収率 (%)	エントリー	X	3	1	1の収率 (%)
1		3a	1a	93	8		3h	1h	92
2		3b	1b	92	9		3i	1i	98
3		3c	1c	98	10		3j	1j	88
4		3d	1d	90	11		3k	1k	quant
5		3e	1e	87	12		3l	1l	91
6		3f	1f	95	13		3m	1m	96
7		3g	1g	99					

規非天然アミノ酸不斉合成法の開発研究を展開しております。

2. 非天然アミノ酸含有ペプチド合成への展開

ここまで非天然アミノ酸ユニットの不斉合成について筆者のアプローチを紹介しましたが、本項ではそれらのユニットを含有するペプチド合成への応用展開をご紹介します。

非天然アミノ酸含有ペプチドは、その構造の多様性に応じて様々な生物活性や体内動態プロファイルを示す無限の可能性を秘めた創薬ツールであり、それらを効率よく調製する手法の確立が求められています⁵。これまで当該ペプチドは、(1) 非天然アミノ酸ユニットの不斉合成、(2) Fmoc アミノ酸への変換、(3) 縮合反応によるペプチド鎖伸長プロセスへの導入の3ステップで合成されてきました。しかし本手法では、合成した非天然アミノ酸ユニットを不斉反応

による骨格構築後に複数の工程を経てペプチド合成に適用可能な Fmoc アミノ酸に誘導するため、多様な非天然側鎖のアミノ酸を含有するペプチド群を網羅的に合成するには非常に多くの工程数が必要となります。また側鎖構造によってはペプチド鎖への導入時にエピメリ化を伴う可能性もあります。筆者は、これらの問題点を解決する方法として『ペプチド鎖伸長過程で非天然アミノ酸構造の不斉構築を行う』ことを考案しました。図4にはその概略を示しています。すなわち、合成標的ペプチドの天然アミノ酸で構成された部分を一般的なペプチド鎖伸長プロセスによって構築します。非天然構造導入部位には、Fmoc アミノ酸の代わりに N 末端に適切な保護基を持つグリシンを導入します。その後、得られるペプチドの N 末端グリシン残基を酸化することでイミノペプチドへ変換後、不斉触媒存在下種々求核剤

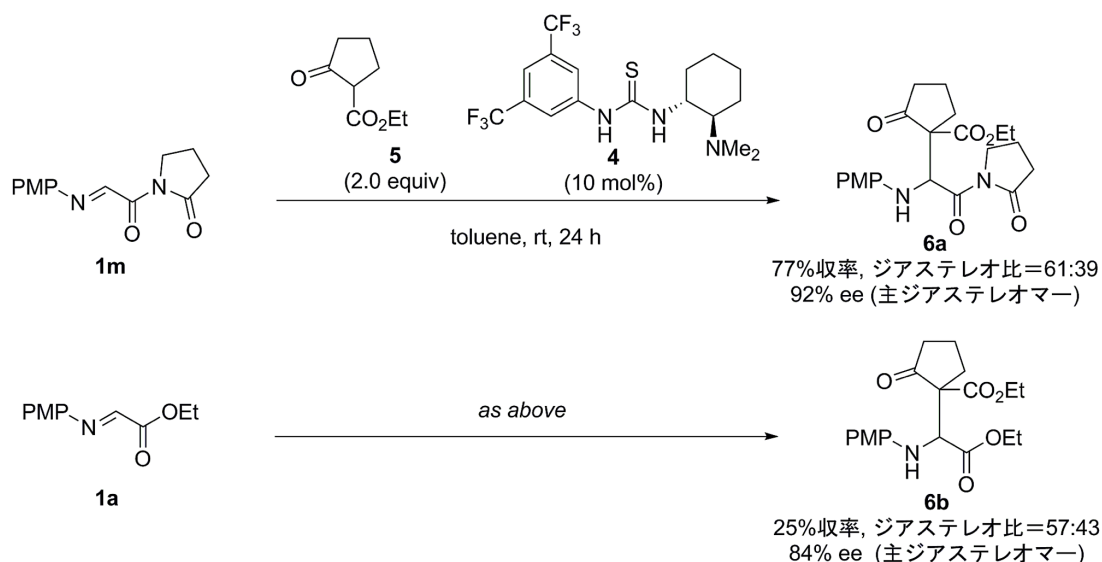


図3 新規 α -イミノカルボン酸誘導体を用いた非天然アミノ酸の不斉合成

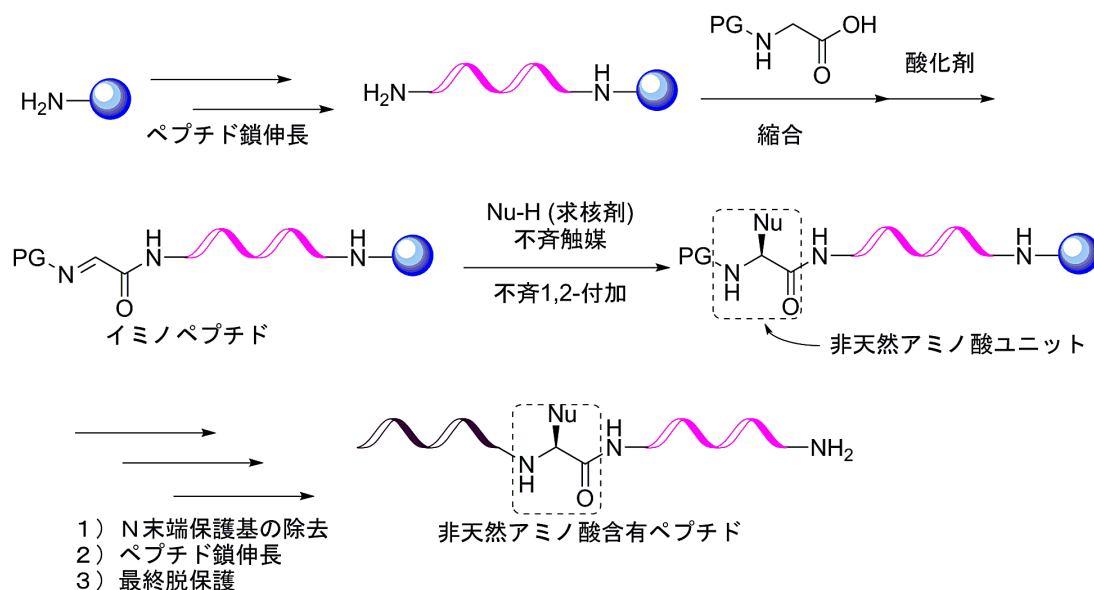


図4 ペプチドへの直接的な不斉反応による非天然アミノ酸含有ペプチド合成コンセプト

との不斉 1,2-付加を行い、保護基の除去とペプチド鎖伸長、最終脱保護を経て所望のペプチドを合成する、というコンセプトです。本法では、不斉触媒反応により構築した非天然ユニットは不斉反応後すでにペプチド鎖に組み込まれていますので、既存法で必要となるエピメリ化の危険をはらむ縮合過程を含む多くの変換プロセスを省略できるものと期待しました。

本コンセプトではペプチド性の基質に対して不斉反応を行うこととなりますが、多くの不斉反応では基質と不斉触媒分子同士の相互作用を最大限に発揮させるために比較的低極性の有機溶媒の使用が好まれます。しかし通常、ペプチド性化合物は極性の低い溶媒にほとんど溶けません。筆者はこの問題の解決策として長鎖アルキル鎖で構成された疎水性アンカーに着目しました。疎水性アンカー構造を持つペプチドはアミノ酸残基の縮合や Fmoc 基除去といった有機反応プロセスをクロロホルム等の低極性有機溶媒中で行うことができ、これを利用したペプチド合成研究が複数の研究グループによって達成されています^{6,7}。筆者は本アンカーを用いれば低極性有機溶媒中でのペプチド性基質への不斉反応も可能になると考えました。

本研究で筆者は構築する非天然アミノ酸骨格として、 α -炭素にインドール環が直接連結した α -インドリルグリシンを選択しました。当該アミノ酸は求核剤としてインドールを用いることで構築可能であり、構造の類似性からトリプトファンやフェニルアラニン等の芳香族アミノ酸のアナログになることが期待

されます。以下、これまでの検討で得られた結果を紹介します(図 5)⁸。まず疎水性アンカー構造を有する文献既知のアミン **7** を出発物質とし、一般的な Fmoc 法に従ってグリシンを 3 残基導入し N 末端を 2-nitrophenylsulfenyl (Nps) 基で保護しました。前項で用いた二酸化マンガンを用いることで **8** の N 末端グリシン残基の酸化が首尾よく進行し不斉反応の基質となるイミン部位を有するペプチド **9** を調製することができました。キラルリン酸触媒 **10** を用いて **8** に対するインドールとの不斉 1,2-付加反応を行い、インドリルグリシン構造を導入し、付加体 **11** に対してインドール窒素への保護基導入と Nps 基除去の後、Tyr(^tBu) を 1 残基導入することで前駆体ペプチド **12** としました。**12** への TFA 処理による疎水性アンカーからの切り出しと Tyr 側鎖脱保護を行い、最後にインドリルグリシン側鎖の保護基を除去することで所望のインドリルグリシン含有ペプチド **13** を合成することができました。現段階で、収率・立体選択性に大いに改善の余地はありますが、ペプチドへの直接的な不斉反応という独自のアプローチによる非天然アミノ酸含有ペプチド合成に世界で初めて成功しました。現在、基質ペプチドの適用範囲および不斉反応の適用拡大を通じて、本法による非天然アミノ酸含有ペプチド合成研究を更に展開しているところです。

3. 最後に

以上、触媒的不斉合成によるアミノ酸及びペプチド合成への展開について筆者の研究成果を紹介させ

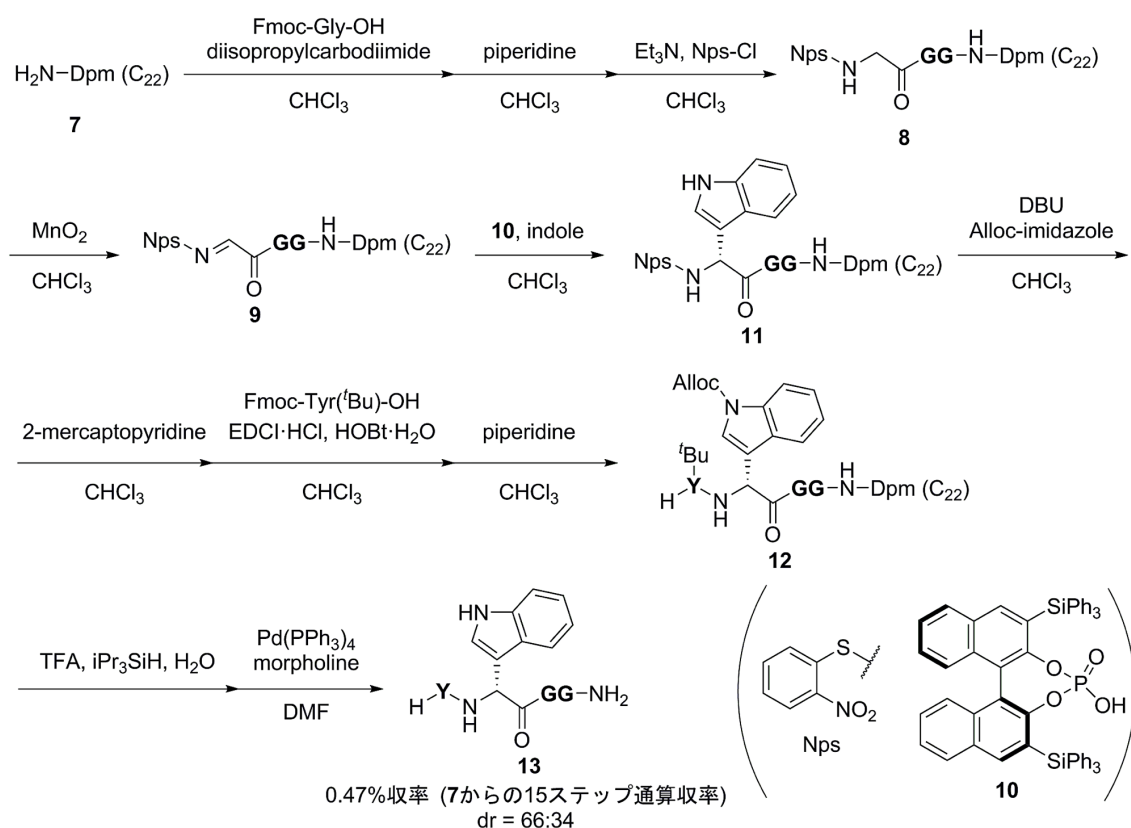


図5 ペプチドへの直接的な不斉反応によるインドリルグリシン含有ペプチド合成

ていただきました。今後も筆者なりにユニークなコンセプトを考案しそれを実践することでペプチド科学、そしてサイエンスの発展に少しでも貢献できるよう精進するつもりです。

末筆にはなりますが、学生時代より研究指導していただきました京都大学薬学研究科竹本佳司教授、私にペプチド研究の魅力を伝えてくださいました徳島大学薬学部大高章教授ならびに重永章講師、そして現在の研究活動を共に推進してくださいます山田健一教授に厚く御礼申し上げます。ここまでの研究成果は、学生時代ともに研究室生活を過ごした先輩方や同級生、後輩の皆さん、助教赴任後に研究室配属された多くの学生の皆さまのおかげであり、この場を借りて心より感謝申し上げます。また、このような寄稿の機会を与えてくださいました編集委員の京都大学・大石真也先生に厚く御礼いたします。

参考文献

1. Walker, S.; Chen, L.; Hu, Y.; Rew, Y.; Shin, D.; Boger, D. L. *Chem Rev* 2005, 105, 449–476.
2. Taggi, A. E.; Hafez, A. M.; Lectka, T. *Acc Chem Res* 2003, 36, 10–19.
3. Inokuma, T.; Jichu, T.; Nishida, K.; Shigenaga, A.; Otaka, A. *Chem Pharm Bull* 2017, 65, 573–581.
4. Okino, T.; Hoashi, Y.; Takemoto, Y. *J Am Chem Soc* 2003, 125, 12672–12673.
5. Kang, W.; Liu, H.; Ma, L.; Wang, M.; Wei, S.; Sun, P.; Jiang, M.; Guo, M.; Zhou, C.; Dou, J. *Eur J Pharm Sci* 2017, 105, 169–177.
6. Takahashi, D.; Yano, T.; Fukui, T. *Org Lett* 2012, 14, 4514–4517.
7. Tana, G.; Kitada, S.; Fujita, S.; Okada, Y.; Kim, S.; Chiba, K. *Chem Commun* 2010, 46, 8219–8221.
8. Inokuma, T.; Nishida, K.; Shigenaga, A.; Yamada, K.; Otaka, A. *Heterocycles* 2018, in press.

いのくま つばさ
徳島大学大学院医歯薬学研究部（薬学域）
薬品製造化学分野
tinokuma@tokushima-u.ac.jp

溶解性タグを利用した蛋白質化学合成

1. はじめに

株式会社ペプチド研究所の津田修吾と申します。この度は、研究紹介の機会を与えてくださり有難うございます。私は 2009 年に徳島大学大学院博士前期課程（薬学系）修了後、ペプチド研究所に入社しました。学生時代から現在まで一貫してアミノ酸誘導体やペプチドの合成に従事しており、学生時代は大高章先生、重永章先生のご指導のもとでその基礎を学びました。入社してから 2014 年までの間は、カタログ商品合成や受託合成を主に担当し、高純度ペプチド合成のためのノウハウを培いました。2014 年秋に現在の研究部門に異動した後は、蛋白質合成研究とそのツール開発に従事しており、2016 年 7 月に博士号（薬科学）を取得しました。以上が簡単な自己紹介となります。

さて、我々の研究を紹介させて頂く前に蛋白質化学合成の現状について少しご紹介致します。固相合成可能なペプチド鎖は 50 残基程度と一般に考えられており、100 残基以上の蛋白質を合成する場合、予め調製したセグメント同士を収斂的に連結する必要があります。古典的な方法として、縮合点以外の官能基を保護したセグメント同士を連結する『セグメント縮合法』が知られており、弊社でもその手法を駆使して、1998 年に当時世界最長の緑色蛍光蛋白（GFP, 238 残基）の全合成を達成しています¹。とはいえ、保護セグメントのハンドリングには多くのノウハウが必要で、蛋白質合成を行う研究グループは限られていました。翻って、20 年が経過した現在はどういった状況でしょうか？ 筆者の知る限り化学合成された蛋白質の最長記録は 456 残基となっております²、100 残基程度の蛋白質ならば（ペプチド合成が専門でない）数多くのグループによって合成されています。蛋白質合成が着手しやすい研究テーマの 1 つとして認識されていることが窺えます。もちろん、



津田 修吾

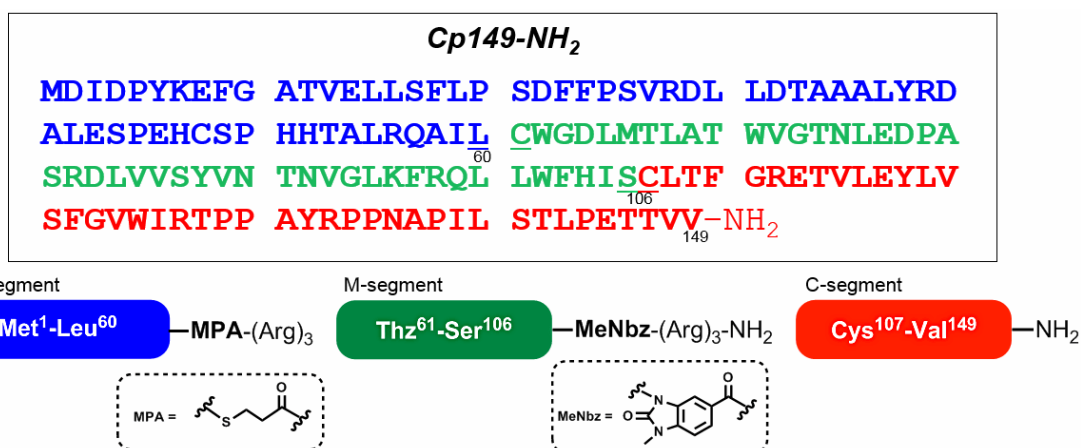


図 1 Cp149-NH₂ と各セグメントの構造

ここでブレイクスルーとなった研究としては、ペプチドチオエステルを連結反応の鍵化合物として利用した『チオエステル法』³ならびに『ネイティブケミカルライゲーション (NCL) 法』⁴が挙げられます。特に 1994 年に Kent 先生らが開発した NCL 法は、完全無保護のペプチドチオエステルと N 末端 Cys ペプチド間の化学選択的な反応であり、同時に各論研究の発展も伴ったことからペプチドセグメント連結法のファーストチョイスとなっています。しかしながら、実際に蛋白質合成を行う場合にはトライアル&エラーも多く、特に『difficult sequence』に代表されるような扱いにくい配列に遭遇した際にどのように対処するか、その選択肢を多く準備しておくことが効率的な蛋白質合成達成への鍵であると筆者は感じています。今回は、その解決法の 1 つとして、我々が近年開発した溶解性タグ戦略⁵についてご紹介させていただきます。

2. 新規溶解性タグ Trt-K₁₀ 開発の経緯

今回の我々の合成ターゲットは B 型肝炎ウィルスのカプシド粒子構成蛋白 Cp149-NH₂ (149 残基) です。その名の通り、自己会合によってカプシド粒子を構成する蛋白であり、高い凝集性を示します。149 残基の蛋白ですから、ステップワイズに伸長することは困難と予想し、3 つのセグメントからなる NCL 法を用い、M-segment と C-segment を連結した後に N-segment を連結する計画を立てました (図 1)。各セグメントの合成検討を行った後、チオエステル等価体を有する M-segment と N 末端 Cys を有する C-segment を用いて NCL 反応を行いました。反応は 6 時間ほどで問題なく完結しましたが、得られた (M+C)-segment [Thz⁶¹-Val¹⁴⁹] が HPLC での精製中にダラダラと溶出してしまい、効率的に精製することが出来ませんでした。結果として 16% と低い収率ながらも単離出来ましたが、(M+C)-segment は次の反応に用いる緩衝液に溶かすことが出来ません

でした。各々のセグメント自体は比較的扱い易かったのですが、(M+C)-segment になった途端に扱いにくくなったわけです。このような問題を解決するために、溶解性タグを導入する必要があると考えました。溶解性タグとは、原料セグメントに poly-Lys や poly-Arg, PEG などの親水性ユニットを一時的に導入するタグのことで、原料セグメント、中間体、もしくは目的物の溶解性を向上させる目的に用いられています (最終的には除去が必要)。溶解性タグを利用することで、NCL や HPLC 精製の際の溶解性に起因する問題が改善され、効率的な蛋白質合成に繋がることはよく知られており、挑戦的な課題の 1 つである膜蛋白質の合成などにも応用されています⁶。しかし、既存の方法では、合成中間体の段階で扱いにくさに直面した場合、溶解性タグを導入した原料セグメントを新たにゼロから固相合成し直す必要があります。また、アミノ酸誘導体の多段階合成、タグを導入したセグメントの固相合成、タグ除去などの検討は少しハードルが高いように思えました。こういった経緯で、NCL 反応液中で後から溶解性タグを導入しうる新しいシステムの必要性を痛感したわけです。すなわち、次の I – III の特長を持つシステムの開発です。

- I 溶解性タグ部分が簡便に調製できる。
- II 既に合成済みの原料セグメントを利用できる。
- III 溶解性タグの除去が副反応なく行える。

これらの特長を有する新規溶解性タグ開発のために、我々が過去に報告した Cys 選択的な Trt 基の『簡単な付け外し』を活かせると考えました。その論文では、①トリチルアルコールと Cys 含有ペプチドをヘキサフルオロイソプロパノール (HFIP, pK_a = 9.3) に溶解させるだけで、Cys 選択的に Trt 基が導入できること、②その Trt 基は一般的なペプチド脱保護条件である TFA/トリイソプロピルシラン (TIS) で簡便に除去可能であること、を報告しています⁷。こ

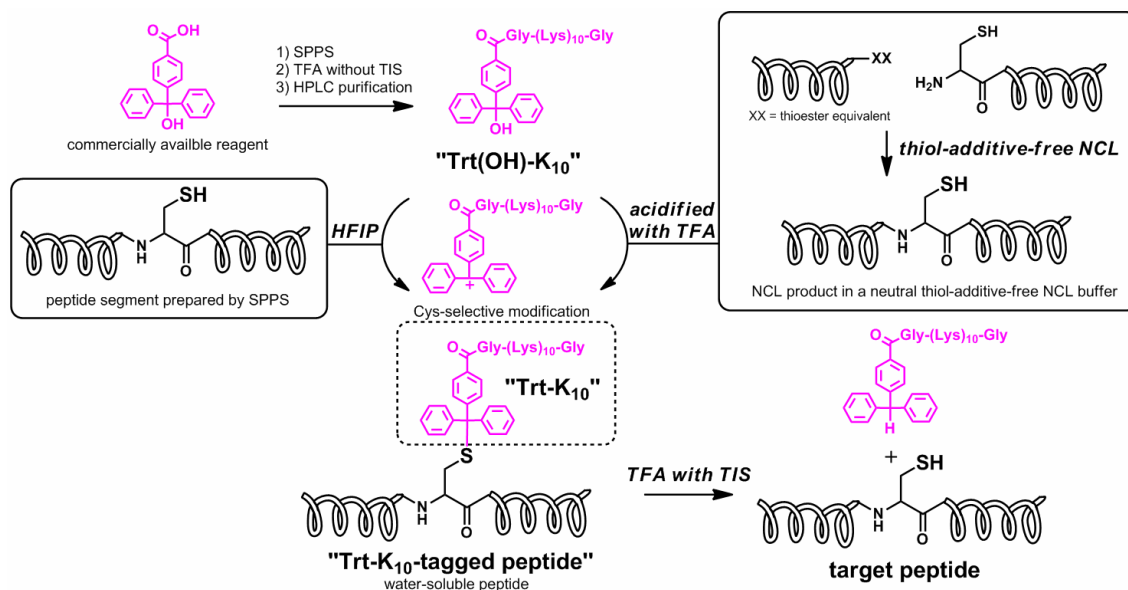


図 2 Trt-K₁₀ タグを用いた溶解性向上戦略

の経験に基づき、NCL 反応終了後の中性反応液を TFA で程良く酸性にすれば Cys 選択的にトリチルアルコール誘導体を導入できるはずと考えて、トリチルアルコール誘導体である新規溶解性タグ導入試薬 Trt(OH)-K₁₀ を設計しました (図 2)。Trt(OH)-K₁₀ は溶解補助配列 Gly-Lys₁₀-Gly の N 末端に市販の 4-(diphenylhydroxymethyl)benzoic acid を縮合した化合物で、一般的な固相合成法と脱保護を経て問題なく合成が可能です。

Cp149-NH₂ の全合成では、溶解性に難のある (M+C)-segment を含んだ NCL 反応液に Trt(OH)-K₁₀ と TFA を加えて系を酸性にすれば Cys¹⁰⁷ 選択的に溶解性タグを導入でき、その結果、(M+C)-segment の水系溶媒への溶解性が向上するのではないかという計画です。ただし、NCL 反応では一般に反応加速剤として 4-メルカプトフェニル酢酸 (MPAA) が汎用されますが、Trt(OH)-K₁₀ は大過剰存在する MPAA と Cys¹⁰⁷ のチオール基を区別出来ないで、MPAA を使用しては Cys¹⁰⁷ への効率的なタグ化は困難であると予想されます。そこで、MPAA 以外の反応加速剤で NCL を行う必要があるわけですが、その課題をクリアする見込みもありました。それは、我々が imidazole や 1,2,4-triazole が MPAA の非チオール性代替加速剤になることを報告していたからです⁸。Imidazole/1,2,4-triazole-NCL を利用すれば、反応終了後の (M+C)-segment の Cys¹⁰⁷ に直接溶解性タグを導入できると予測しました。

3. Trt(OH)-K₁₀ を利用した Cp149-NH₂ の合成

まず、NCL 終了後の反応液でのタグの付加を想定した環境で、Cys 含有モデルペプチド (Gly-Cys-Ala-pNA) と Trt(OH)-K₁₀ (1.2 eq.) とが望み通りに反応するか検討しました。すなわち、MPAA/imidazole/1,2,4-triazole を加速剤として利用した各々の NCL 反応想定液にモデルペプチドと Trt(OH)-K₁₀ を溶解させた後に TFA を 1 : 1 (v/v)

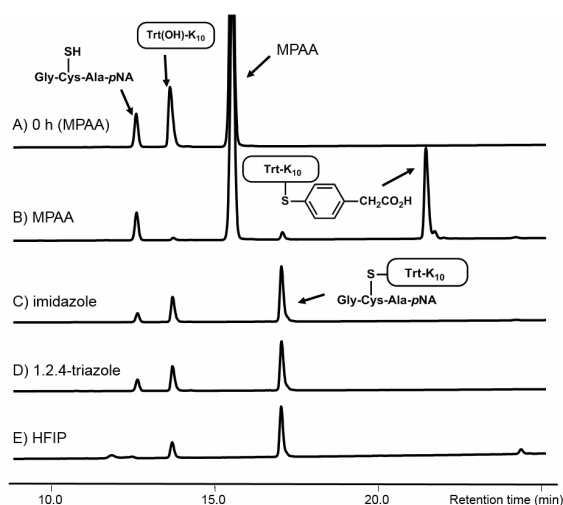


図 3 各反応液での Gly-Cys-Ala-pNA のタグ化反応: (A) 0 h, (B) TFA/MPAA 緩衝液 (v/v = 1/1), (C) TFA/imidazole 緩衝液 (v/v = 1/1), (D) TFA/1,2,4-triazole 緩衝液 (v/v = 1/1), (E) HFIP (溶媒)

の比になるように加えました。MPAA 反応液を用いた場合は、予想通り Cys と MPAA のチオール基は区別されず、大部分の Trt(OH)-K₁₀ が MPAA と反応しました。一方で、imidazole や 1,2,4-triazole 反応液を TFA で酸性にした場合、モデルペプチドに望み通りタグが導入されました (図 3)。さらなる条件検討の結果から、Trt(OH)-K₁₀ を過剰に用いれば imidazole/1,2,4-triazole-NCL 反応液と TFA の比が約 40 : 60 ~ 50 : 50 (v/v) の時に定量的にタグが付加されることを確認しました。また、種々のアミノ酸存在下でも Cys 残基選択的にタグ化されることも確認しました。このようなモデルペプチドでの検討結果を踏まえて、実際に Cp149-NH₂ の合成に応用しました (図 4, 5)。M-segment **1** と C-segment **2** の NCL 反応を 1,2,4-triazole-NCL (6 M Gn·HCl, 2.5 M 1,2,4-triazole, 30 mM TCEP, pH 7.1) にて実施しました。反応が完結した 16 時間後、中間体 **3** を含んだ反応液に Trt(OH)-K₁₀ (12 eq.), TFA を加え (1,2,4-triazole buffer/TFA (v/v) = 42/58), 1 時間攪拌したところタグは定量的に付加されました。その後、HPLC 精製を経て、単離収率 40% で所望のタグ付き中間体 **4** が得られました (図 5A)。期待通り、大幅な収率改善に繋がっています。今回の最適条件では Trt(OH)-K₁₀ を 12 当量使用しましたが、HPLC 精製時に約 80% を回収可能、かつ再利用可能であることを確認しています。また、タグ付き中間体 **4** は次の脱 Thz 反応の場であるメトキシアミン緩衝液 (6 M Gn·HCl, 1 M MeONH₂·HCl, 200 mM Na₂HPO₄, pH 4.0) に容易に溶解し (1 mg/0.3 mL), 8 時間の反応の後に目的の N 末端 Cys 中間体 **5** は 63% の単離収率で得られました (図 5B)。タグを付加していない中間体 **3** はメトキシアミン緩衝液に溶けなかったことから、タグの付加が溶解性に劇的な効果を与えたことは明白です。続く N-segment **6** との最終 NCL 反応も問題なく進行し、HPLC 精製後に所望の化合物 **7** を単離収率 38% で得ました (図 5C)。TFA/TIS (95/5) による **7** からのタグの除去も副反応なく完了し、目的の Cp149-NH₂ を無事に得ることが出来ました (単離収率 41%, 図 5D)。得られた Cp149-NH₂ のフォールディング後の CD スペクトルは過去に報告されていたものと良く一致しました。このように新規溶解性タグを用いることで、Cp149-NH₂ の全合成を達成することが出来ました。我々が知る限り、原料セグメントの合成に立ち返ることなく溶解性タグを導入したのは初めてであり、『difficult sequence』を含む蛋白質合成の新たな解決法を提案することが出来たと考えています。

4. おわりに

Trt-K₁₀ タグを用いることで Cp149-NH₂ の中間体 **4** の『扱いやすさ』は劇的に改善されました。今回開発した溶解性タグの特長は、難しい有機合成を必要とせず、固相合成だけでその導入試薬 Trt(OH)-K₁₀ が合成できる点と、合成途中であってもタグの付け外しが副反応なく簡便に実施出来る点にあります。なお、原料セグメントの HFIP 溶液に導入試薬を加えても、Cys 選択的に溶解性タグを導入することは

可能です (HFIP は『difficult sequence』を溶かし得る強力な溶媒として知られています)。HFIP を用いた反応では 1 当量程度の Trt(OH)-K₁₀ でタグを付加出来るため、実用面で優れています。また、トリチル誘導体型タグは脱硫反応やチオエステル法など今日の蛋白質合成に欠かせない技術にも問題なく応用できることも確認しています。今後、我々が開発した新規溶解性タグシステムが『difficult sequence』を含むペプチドや蛋白質合成の汎用性のある解決法の一つになることを心から願っております。

謝辞

本研究の大部分はペプチド研究所で遂行されました。吉矢拓博士、西尾秀喜博士をはじめペプチド研究所の皆様にご場を借りて御礼申し上げます。また、共同研究者であります京都大学大学院薬学研究科 大石真也先生、石場勲之様に多大なるご協力頂きました事を心より感謝申し上げます。最後になりましたが、本稿執筆の機会を与えて頂きましたペプチ

ドニュースレーター編集委員の先生方に、厚く御礼申し上げます。

文献

1. Nishiuchi, Y.; Inui, T.; Nishio, H.; Bodi, J.; Kimura, T.; Tsuji, F. I.; Sakakibara, S. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95, 13549–13554.
2. Tang, S.; Liang, L. J.; Si, Y. Y.; Gao, S.; Wang, J. X.; Liang, J.; Mei, Z.; Zheng, J. S.; Liu, L. *Angew Chem Int Ed* 2017, 56, 13333–13337.
3. Hojo, H.; Aimoto, S. *Bull Chem Soc Jpn* 1992, 65, 3055–3063.
4. Dawson, P. E.; Muir, T. W.; Clark-Lewis, I.; Kent, S. B. H. *Science* 1994, 266, 776–779.
5. Tsuda, S.; Mochizuki, M.; Ishiba, H.; Yoshizawa-Kumagaye, K.; Nishio, H.; Oishi, S.; Yoshiya, T. *Angew Chem Int Ed* 2018, 57, 2105–2109.
6. Li, J. B.; Tang, S.; Zheng, J. S.; Tian, C. L.; Liu, L. *Acc Chem Res* 2017, 50, 1143–1153.

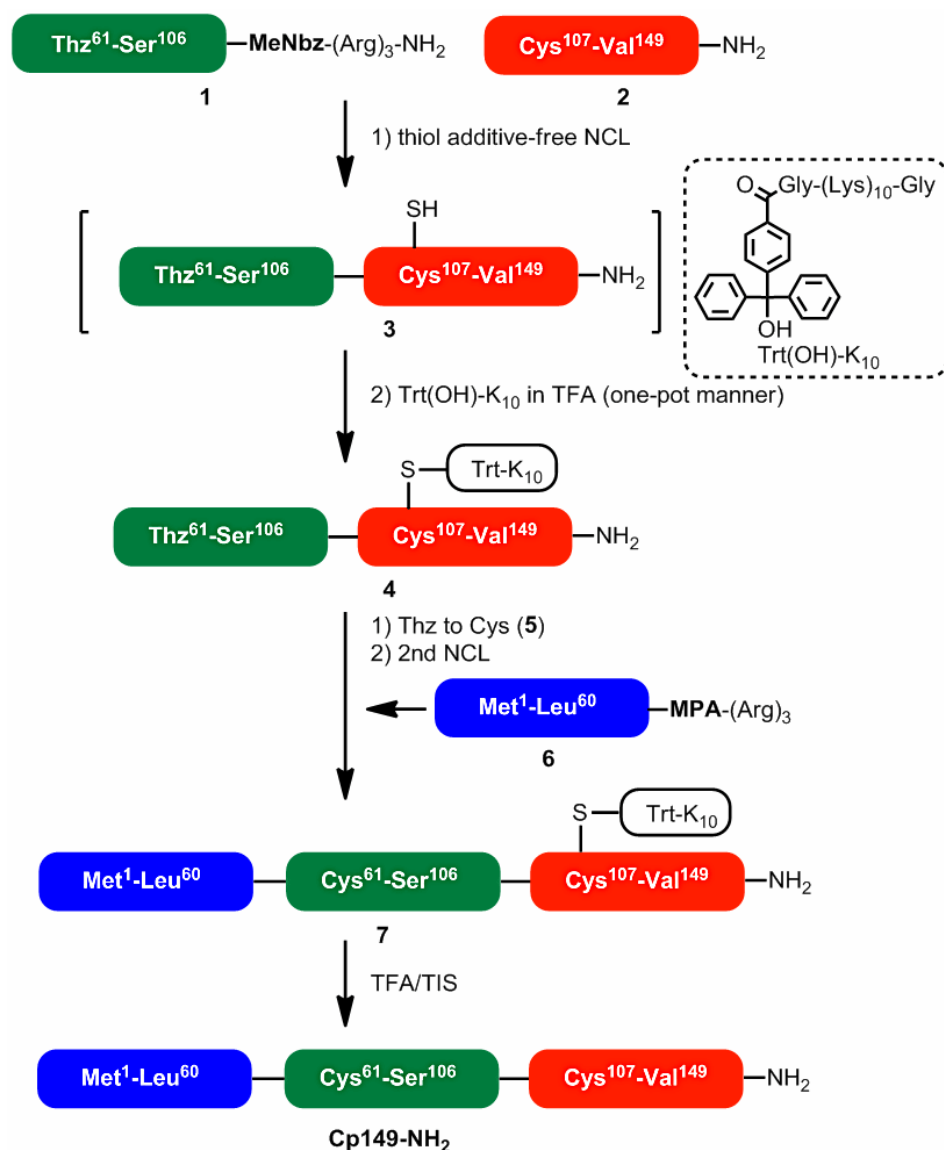


図4 Trt(OH)-K₁₀ を利用した Cp149-NH₂ の合成

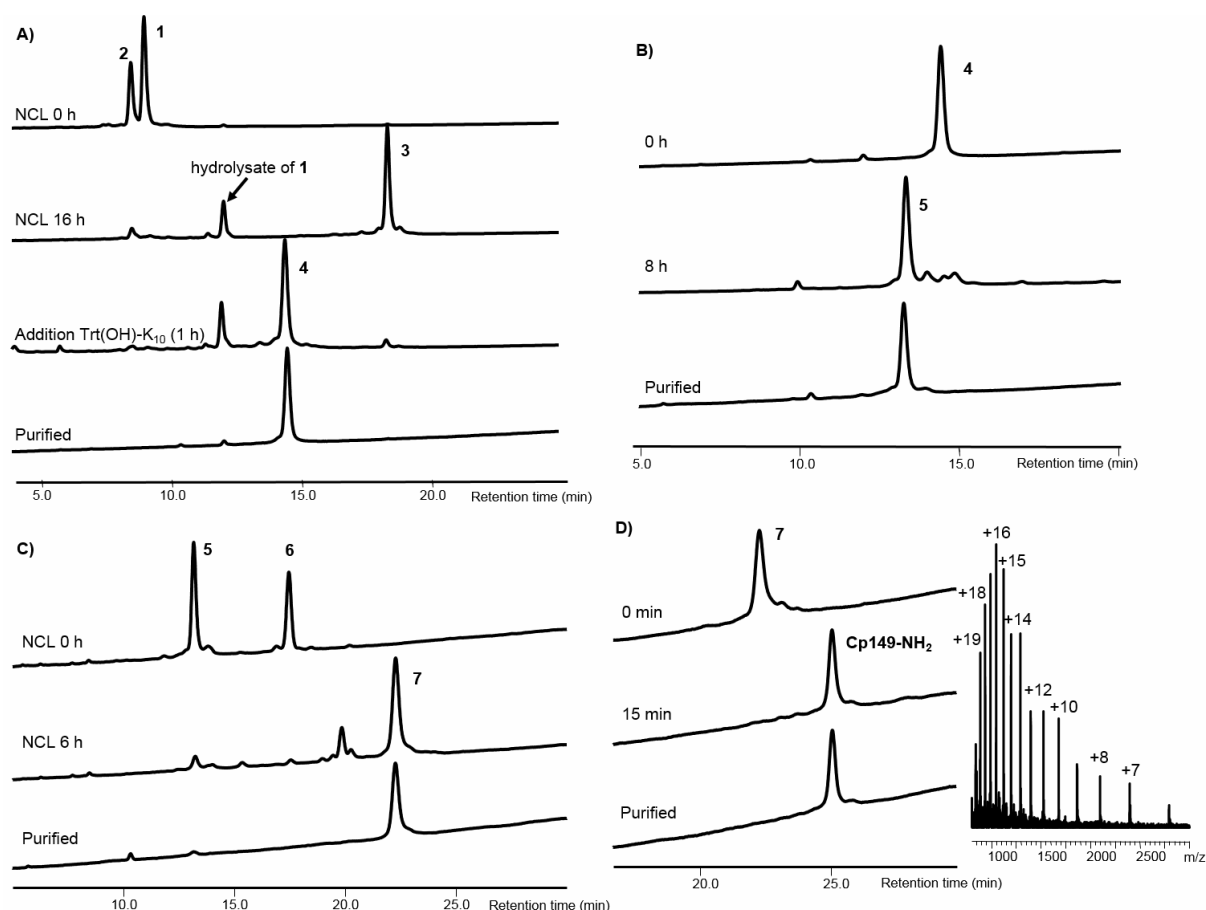


図5 Cp149-NH₂ 合成時の HPLC による反応の追跡：(A) 1st NCL とタグ化反応，(B) Thz⁶¹ から Cys⁶¹ への変換反応，(C) 2nd NCL 反応，(D) TFA/TIS によるタグの除去

7. Mochizuki, M.; Hibino, H.; Nishiuchi, Y. Org Lett 2014, 16, 5740–5743.
8. Sakamoto, K.; Tsuda, S.; Nishio, H.; Yoshiya, T. Chem Commun 2017, 53, 12236–12239.

つだ しゅうご
株式会社ペプチド研究所
tsuda@peptide.co.jp
<https://www.peptide.co.jp/>

留学体験記（英国カーディフ大学）

1. はじめに

私は現在、大阪府立大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻にて、中瀬生彦 准教授（細胞機能制御化学）のご指導のもと、ペプチド化学を用いた細胞内薬物送達ツールの開発研究に精進しております。2017年11月より3か月間「トビタテ！留学 JAPAN 日本代表プログラム（文部科学省）」という官民協働での留学奨学金制度を利用し、膜透過性ペプチド等の薬物送



片山 未来

達キャリアに関する細胞内取り込み機構の解明研究を展開されている Arwyn Tomos Jones 教授（英国 School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Cardiff University）の研究室にて大変お世話になりました（図1, 2）。本留学体験記では、トビタテ！留学 JAPAN の留学制度、カーディフでの研究と生活、日英の博士課程教育の違いについて述べたいと思います。

2. トビタテ！留学 JAPAN について

「トビタテ！留学 JAPAN 日本代表プログラム」は、2014年から2020年までの7年間で約1万人の高校生、大学生を派遣留学生として海外へ送り出す官民協働の留学支援制度です。本奨学金の特長は、①手厚い奨学金（月額12～16万円、渡航費、授業料の一部）が給付される、②留学プラン（内容・計画・行先等）を自由に組み立てる事が可能、③語学留学や座学中心の留学ではなく、実践活動（研究、インターンシップ、フィールドワークなど）を焦点にした留学計画が推奨される、④様々な分野でグローバルに活躍するトビタテ生コミュニティに加入できる点が挙げられます。何より奨学金が手厚いので、海外旅行保険等の留学準備から生活費まで本奨学金でカバーできました。応募コースは5つあり、私は「理系、複合・融合系人材コース」で申請しました。「ト

ビタテ！ 留学 JAPAN プログラム」の選考は、書類選考（留学計画書と自己アピール）と、書類選考を突破後は、文部科学省での個人面接と留学計画のプレゼン・グループディスカッションによって最終審査となります。当時、選考準備は本当に大変でしたが、一方で選考準備を進める中で少しずつ将来の目標と留学先で得たいことが明確になっていきました。出国前と帰国後には事前・事後研修が用意されており、事前研修では様々な思いを持って海外に飛び立つトビタテ生と留学への思い・将来のビジョンを語り合いました。英国でもトビタテ生に会う機会があり、留学の内容や留学中の悩みを共有でき、残りの留学生活へのモチベーションにもなりました。一緒に頑張る仲間がいるというのは心強く、本留学制度を利用して良かったと思う瞬間でした。

3. 研究について

私の Jones 教授研究室での研究テーマは、“toxin（毒素）”の細胞内移行性を新たに活用した“薬物送達ツールの創製”です。本研究では、着目したリボソーム不活化 toxin は、低濃度、且つ、高効率に細胞膜を通過してサイトゾルに移行する特徴を持ちます。分子量約 3 万の toxin が、どのように細胞膜を通過しサイトゾルへ移行するのか、詳細な機序は未だ解明されていません。私は、リボソーム不活化 toxin を基盤としたサイトゾルへの送達キャリアーを創製する



図 1 カードiff大学の main building

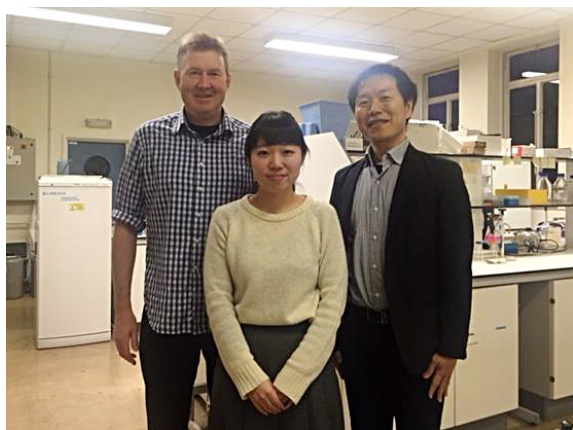


図 2 Lab の様子 ((左) Jones 先生, (右) 中瀬先生)

べく、第一に詳細が不明な細胞内移行機序を解明するため、膜透過性ペプチドをはじめとした機能性分子の細胞内移行機序を、高度な顕微鏡技術を駆使し、世界最先端で研究を行っている Jones 教授の研究室で実験を行いました。研究手法としては、細胞内環境に影響を受けにくい pH 非感受性の蛍光標識 toxin を調製し、細胞内移行の可視化を様々なエンドサイトーシス経路阻害条件やオルガネラ染色技術（特にデキストランを利用したリソソームトレース法）を用いることで、どのような経路で細胞内へ移行しているか検討を進めました。また蛍光 toxin の細胞内移行過程において、細胞膜通過がどの時点で行われているのか、そのタンパク質濃度（細胞外・細胞内）の影響や、細胞毒性（細胞形態変化等）について、共焦点レーザー顕微鏡等を用いて詳細な検討を行ないました。Jones 教授の研究室での研究スタート当初は、細胞培養の方法等の基本手技が日本での場合とは異なり、私が学部 3 年生で日本での研究室に配属になった頃のように基礎から勉強しました。慣れない環境で、初めて触れる装置を使って実験することにとっても苦戦しました。何度も聞き直し、それでも分からない場合は筆談を用いていつも真正面から丁寧にご指導頂いた Jones 教授、並びに、研究室スタッフには大変感謝しています。帰国後も共同研究を続けており、toxin のサイトゾル移行には、新しい知見としてリソソーム到達後が予想される実験結果が得られつつあり、今後さらに機序解明に繋がる結果が得られるように進展させたいと考えております。

4. 英国と日本の研究環境・博士教育課程の違い

留学先での注目すべき点は大きく 3 つあります。一点目は卒業年数の違い、二点目は研究室の規模、三点目が博士課程の学生に対する支援基金が多く存在することです。まず一点目に関して、日本の大学の卒業年次は学部 4 年、修士 2 年、博士 3 年であるのに対し、英国では学部 3 年、修士 1 年、博士 3、4 年です。博士コースの学生になぜ進学を決意したのかと尋ねると、学部卒や修士卒で理系における就職を目指す、専門性が低いことから就職可能な職種が狭く、また就職しても実質給料が低いからだと話していました。こうした実情は日本の場合とは異なり、学位取得の違いで、将来就く職種に影響を大きく及ぼすことがわかりました。しかし、容易に大学院へ進学できるわけではありません。それが二点目、研究室の規模の話に繋がります。私が Jones 教授の研究室に来た時に最初に抱いた印象は、研究室の人数がとても少ないということでした。博士研究員が 3 名と、博士課程の学生が 1 名の計 5 名の研究室でした。これは私の勝手な偏見ですが、海外の研究室は大人数のイメージがあったため、とても衝撃的でした。他の研究室も主任研究者（PI）一人に対して 5~6 名のメンバーで構成されていることが多いようでした。これはカードiff大学だけなのかと思い調べてみたところ、英国では研究室あたりに 3 名程度の学生のみ PI が責任をもって育成するという考えがあり、特に生物系の研究室の場合に多いことがわかりました。また様々なバックグラウンドを持つ学

生が英国全土、あるいは海外から応募してくるため、博士課程進学競争率は極めて高いと言えます。インドからカーディフ大学の博士課程に進学した方は、受験までにかなりの困難があったことを話してくれました。留学生がとても多く、オーストラリア、フランス、イタリア、マレーシア、中国など世界各国から集まっているのが印象的でした。無事に博士課程への進学が決まった学生は、小規模な研究室にてPIと密にコミュニケーションを取りながら指導を受けることができます。各ラボに専用の実験室があるのですが、基本的に研究科全体で利用します。そのため、各研究室の垣根が低く、他のラボの先生や学生とフランクにコミュニケーションが取れる機会があるのも魅力的であると感じました。

最後の三点目は、英国の博士課程の学生に対する支援基金・財団が多くあることです。Jones先生の研究室の博士課程の学生がCALIN (The Celtic Advanced Life Science Innovation Network) というウェールズとアイルランドの6つの大学と240の企業が提携している財団から奨学金を得ており、英国には他にも様々な財団があることを教えてくれました。大学院生が支援基金を検索するためのサイト（日本の大手就職サイトのようなもの）があり、そのヒット件数にも驚きました。意欲ある学生に出資し、研究者を輩出していくシステムが整っていることに大変感銘を受けました。また、カーディフ大学の薬学部において、各研究室の先生が他大学あるいは海外から研究者を招待して毎週招待講演が行われていたのですが、特に英国の先生の発表スライド最後の研究費のページでは沢山の企業のロゴが並んでいて、このことから英国において産学連携が進んでいることがよく分かりました。

5. 日常生活について

食事は「英国＝日本人の口に合わない」というイメージを持たれることが多いと思いますが、英国の伝統的な料理は味付けがほとんどされておらず、テーブルに塩コショウやケチャップなどの調味料が並んでいて、客が自分の好みで味付けをできるようになっていました。しかし、様々な食文化が入ってきているので、カーディフでも和食レストランは数



図3 Societyで行ったクリスマスマーケット (Bath)

店舗ありました。ただ外食はとても高いので、私はほとんど自炊をしていました。野菜や果物は日本と比べてとても安く、日本で一人暮らしの生活よりも健康的な食生活だったと思います。生活をしてしたのは研究室から歩いて15分ほどの大学寮 (flat) で、同じ共有スペースを使うメンバーをフラットメイトと呼ぶのですが、私のフラットメイトは中国人、インドネシア人、インド人、モロッコ人と多国籍でした。授業の課題を手伝ったことや、ダイニングキッチンが共有だったので、それぞれの国の料理をシェアすることもありました。中国の旧正月を火鍋でお祝いし、私が帰国する直前は、すき焼きパーティーを開いて、カーディフでの最後の夜はとてもにぎやかで楽しかったです。カーディフ大学の留学生サークル (Society) に入り、Societyメンバーでクリスマスマーケットに行き (図3)、バレンタインデーのカクテルパーティーにも参加しました。また、Societyの方の紹介で、カーディフ大学の日本語クラスの会話レッスンにボランティアで参加させてもらいました。海外の方の外国語 (日本語) 習得の早さに驚きました。研究室以外でも様々な体験ができ非常に充実していました。

6. 最後に

たった3ヶ月という短い留学期間ではありましたが、新しい環境に身を置くことは私自身に大きな影響をもたらしました。文化・言語がまるっきり異なる土地で暮らす難しさを痛感し、慣れるまではとにかく大変でした。研究室に日本人一人の環境で、思っていることはとにかく発信しなければ何も起こらない。分からないことや困っていること、興味を持っていることなど、下手な英語でもとにかく積極的に伝えることが何より大事であることを学びました。

末筆ではありますが、今回の留学体験記を執筆する機会を頂きました大石真也先生をはじめPNJ編集委員の先生方に、深く感謝申し上げます。また、この記事を読んで、「トビタテ！留学JAPAN」という留学奨学金制度があるということや、研究留学を少しでも身近に感じて、一人でも海外に挑戦したいと考える学生の方が増えれば嬉しく思います。

かたやま みく
大阪府立大学大学院理学系研究科
sxc04031@edu.osakafu-u.ac.jp

訃報

日本ペプチド学会名誉会員矢島治明先生 (92才) (京都大学名誉教授、元新潟薬科大学学長) におかれましては、本年5月7日 (月) にご逝去されました。ここに謹んでお悔やみを申し上げますとともに日本ペプチド学会会員の皆様にお知らせいたします。

矢島治明先生は米国ピッツバーグ大学ホフマン教授のもと、創生期にあった米国ペプチド化学界において研究を展開され、帰国後、母校京都大学薬学部において、我が国のペプチド化学の草分け的存在とし

て、薬学分野にペプチド化学の礎を築かれてきました。先生は新しい化学的手法をペプチド化学に導入され、多くの生理活性ペプチドの全合成を達成されました。昭和55年には研究の集大成の一つとして酵素タンパク質リボヌクレアーゼAの全合成を達成されました。これらの業績に対して、日本薬学会学術賞、有機合成化学協会賞、さらに昭和57年には「ウシのリボヌクレアーゼAの全合成と結晶化に関する研究」により日本学士院賞を受賞されました。いずれもが受賞時、最年少受賞記録を樹立したものであります。

また、京都大学薬学部長、日本薬学会会頭、日本学術会議会員などの要職を歴任され、ペプチド化学のみならず、我が国の学術の振興に務められたとともに、昭和55年には米国NIHフォガティ国際学者として招聘され、国際的な学術交流にも貢献されました。また、矢島先生は多くの後進の育成に尽力されました。多くの矢島門下生が日本ペプチド学会の運営そしてペプチド科学の発展に寄与していただいております。矢島先生へ心よりご冥福をお祈り申し上げます。

日本ペプチド学会
会長 三原 久和

第50回若手ペプチド夏の勉強会開催のお知らせ

2018年8月5日(日)から8月7日(火)までの2泊3日で、第50回若手ペプチド夏の勉強会を静岡県浜松市にて開催いたします。今回の主会場は、大河ドラマでおなじみの女城主 井伊直虎と深いつながりのある「臨済宗方広寺派大本山 方広寺」です。この勉強会では、若手ペプチド研究者が中心となっており、ペプチド研究の基礎から始まりケミカルバイオロジー、創薬などの高度な研究領域に挑戦している先輩先生方との活発な討論を通じて、今後のペプチド研究を担う若手研究者を育成することを目的としており、現在準備を鋭意進めております。日々の研究の「楽しさ」を分かち合い、大切な仲間をつくることのできる貴重な場です。皆様のご参加を楽しみにしております。

日時：

2018(平成30)年8月5日(日)～7日(火)

場所：

全スケジュールを方広寺で実施することとなりました。
臨済宗方広寺派大本山 方広寺
〒431-2224 静岡県浜松市北区引佐町奥山1577-1
TEL：053-543-0003, FAX：053-543-0249
URL：http://www.houkouji.or.jp/index.html

ホームページ：

https://www.shizuoka.ac.jp/peptide-summer50/

招待講演：

相本三郎 先生(蛋白質研究奨励会)
小出隆規 先生(早稲田大学)
野水基義 先生(東京薬科大学)

玉村啓和 先生(東京医科歯科大学)

間瀬暢之 先生(静岡大学)

向井秀仁 先生(長浜バイオ大学)

鎌田瑠泉 先生(北海道大学)

光野秀文 先生(東京大学)

渡邉瑞貴 先生(北海道大学)

世話人：

佐藤浩平(静岡大学 工学部)

鳴海哲夫(静岡大学 工学部)

(お問い合わせは E-mail：wakatepep50@gmail.com
までお願いいたします)

第10回国際ペプチドシンポジウム／ 第55回ペプチド討論会

日時：

2018年12月3日(月)～12月7日(金)

場所：

ロームシアター京都、みやこめっせ
(京都府京都市)

ホームページ：

http://www.aeplan.co.jp/10thips/

第10回国際ペプチドシンポジウム(10th IPS)の口頭発表・ポスター発表の締切が近づいてきました。2018年5月発行のPeptide Newsletter Japan 108号(<https://www.peptide-soc.jp/files/newsletter/PNJ108.pdf>)でもご案内しましたように、第10回国際ペプチドシンポジウム／第55回ペプチド討論会では基調講演、招待講演に加え、皆様からの口頭発表、ポスター発表を広く募集致します。また、若手研究者、学生の方を対象に、若手口頭発表枠(20枠程度)を設けるとともに、ポスター賞(20名程度)の授与も行います。世界の一線で活躍するペプチド研究者との交流を深めるとともに、日本のペプチド研究の成果を世界に向けて発信する契機としたいと考えております。ホームページも逐次アップデートしておりますので、チェックいただければと思います。皆様奮っての参加・発表をお待ちしております。京都のホテルは予約が取れにくい状態が続いておりますので、ホテルの確保はお早目をお願いいたします(HPからもご予約頂けます)。

参加・発表申込等に関する重要な期限：

口頭発表申込期限：7月31日(火)午後2時

ポスター発表申込期限：9月5日(水)午後2時

早期参加登録期限：9月5日(水)午後5時

早期参加登録費：

大学等公的研究機関：55,000円

企業・一般：70,000円

学生：20,000円

(早期参加登録期限以降は割増となります)

パンケット(12月7日)：12,000円

ヤングサイエンティストミキサー(12月5日)：3,800円

問い合わせ先：

第10回国際ペプチドシンポジウム事務局

株式会社 エー・イー企画内
TEL：06-6350-7163, FAX：06-6350-7164
E-mail：10ips@aeplan.co.jp

平成 30 年度 JPS トラベルアワード候補者推薦募集

第 35 回ヨーロッパペプチドシンポジウム

第 35 回ヨーロッパペプチドシンポジウム (35th European Peptide Symposium, <http://www.eps2018.com/ehome/index.php?eventid=256357>) (2018 年 8 月 26～31 日) に参加して研究発表する, 2018 年 4 月 1 日現在で 35 歳以下の若手研究者 2 名程度に参加支援金 5 万円 (1 人) を支給します。

希望者は締切日までに, 所定の書式に必要事項を記入した Word 形式のファイルを作成し, PDF ファイルとして電子メールで申し込んでください。学会に提出したアブストラクトはこの書式に貼付してください。なお, 添付するアブストラクトには必ず発表者全員の氏名をご記入下さい。選考は学会賞等選考委員会で行い, 理事会での承認を得たのち, 結果をお知らせします。

書式 (Microsoft Word ファイル) は以下の URL からダウンロードしてください。

https://www.peptide-soc.jp/file/form/award/jps_travel_award_201801.docx

送信する必要書類：

所定の書式に以下の必要事項を記載した

PDF ファイル

1. 推薦者氏名, 会員番号, 所属, E-mail アドレス
2. トラベルアワード候補者について
 - ・氏名, 会員番号
 - ・生年月日および年齢 (2018 年 4 月 1 日現在で 35 歳以下であること)
 - ・所属および身分 (学生は学年)
 - ・所属先住所, 電話番号, FAX 番号, E-mail アドレス
 - ・発表演題および発表カテゴリ
 - ・シンポジウムでの発表形式 (口頭, あるいはポスター)
3. 研究概要, アピールポイント (500 字以内)
4. 受賞以降の研究の進展状況 (過去トラベルアワードを受賞された方のみ, 500 字以内)
5. 提出したアブストラクト (必ず発表者全員の氏名をご記入下さい)

申し込み先：

日本ペプチド学会事務局

E-mail：jps@peptide-soc.jp

締切：

アブストラクト締切の 1 週間後

申し込み後 1 週間経っても事務局から受け取りのメールが届かない場合には, 事務局宛に必ず確認のメールをくださるようお願いいたします。

応募にあたってのご注意：

- ・本トラベルアワードは, 日本ペプチド学会員のみに応募できます。
- ・上記シンポジウムよりトラベルアワードを受賞された際には, 当学会のトラベルアワードはご辞退ください。

日本ペプチド学会 第 15 期役員

- 会 長** 三原 久和 (東京工業大学)
- 副会長** 二木 史朗 (京都大学)
- 理 事** 北條 裕信 (大阪大学) (庶務担当)
大高 章 (徳島大学) (会計担当)
坂口 和靖 (北海道大学) (広報担当)
玉村 啓和 (東京医科歯科大学) (渉外担当)
松崎 勝巳 (京都大学) (国際 PS 担当)
南野 直人
(国立循環器病センター) (海外 PS 担当)
- 野水 基義 (東京薬科大学) (若手担当)
林 良雄 (東京薬科大学) (会員担当)
- 監 事** 津田 裕子 (神戸学院大学)
豊島 正 (ペプチド研究所)
- 評議員** 相本 三郎 (蛋白質研究奨励会)
赤路 健一 (京都薬科大学)
伊東 祐二 (鹿児島大学)
大石 真也 (京都大学)
小野 慎 (金沢工業大学)
川上 徹 (大阪大学)
木曾 良明 (長浜バイオ大学)
栗山 尚浩 (ワイエムシィ)
黒澤 渉 (味の素)
小出 隆規 (早稲田大学)
小林 博幸
(Axcelead Drug Discovery Partners)
- 下東 康幸 (九州大学)
菅 裕明 (東京大学)
土井 隆行 (東北大学)
中瀬 生彦 (大阪府立大学)
関 正博 (神戸天然物化学)
日高 雄二 (近畿大学)
深瀬 浩一 (大阪大学)
藤井 郁雄 (大阪府立大学)
藤井 信孝 (京都大学)
松島 綾美 (九州大学)
南方 宏之 (サントリー生命科学財団)
向井 秀仁 (長浜バイオ大学)
森脇 浩樹 (浜理薬品工業)
渡邊 英彦 (渡辺化学工業)

《2018 (平成 30) 年度行事予定》

平成 30 年 8 月 5 日 (日) ～ 8 月 7 日 (火)
第 50 回若手ペプチド夏の勉強会
場 所：方広寺 (静岡県浜松市)
世話人：佐藤浩平, 鳴海哲夫 (静岡大学)

編集後記

平成 30 年 12 月 3 日 (月)
第 98 回理事会・第 37 回評議会合同会議

平成 30 年 12 月 3 日 (月) ~ 12 月 7 日 (金)
第 10 回国際ペプチドシンポジウム／
第 55 回ペプチド討論会
場 所：ロームシアター京都、みやこめっせ
(京都府京都市)
世話人：二木史朗、松崎勝巳 (京都大学)

平成 30 年 12 月 5 日 (水)
平成 30 年度日本ペプチド学会通常総会

日程未定
日本ペプチド学会市民フォーラム
場 所：未定
世話人：大石真也、矢野義明、河野健一 (京都大学)

平成 30 年 12 月 8 日 (土)
第 24 回ペプチドフォーラム「International Mini-Symposium on Peptide-Membrane Interaction and Intracellular Delivery (Kyoto, 2018)」
場 所：京都大学 化学研究所 (京都府宇治市)
世話人：二木史朗 (京都大学)
中瀬生彦 (大阪府立大学)
Jaehoon Yu (ソウル大学)

平成 30 年 12 月 10 日 (月)
第 25 回ペプチドフォーラム
場 所：東京医科歯科大学 (東京都文京区)
世話人：玉村啓和 (東京医科歯科大学)
林良雄 (東京薬科大学)

平成 31 年 1 月 (予定)
第 99 回理事会

ペプチドニュースレター 109 号をお届けします。109 号の研究紹介では、ペプチドをつくるための新しいアプローチの開発に取り組んでおられる先生方にご執筆をお願いしました。ペプチド合成はすでに完成された合成技術の 1 つであると考えられがちですが、実際に高品質なペプチドを効率よく取得するためには高度なノウハウの集積が必要です。学術論文には記述されない研究者の思考のプロセスの記録としてもご活用いただければ幸いです。留学体験記は、「トビタテ！ 留学 JAPAN」を利用した留学に関するシリーズの第 1 回です。片山さんの記事を参考にして「トビタテ」のホームページを拝見しましたところ、制度のコンセプトの紹介ページに「わたしは、空調のきいた自分の部屋で…」という記述がありました (ぜひ、ページのすべてをご覧ください)。日本は盛夏を迎え蒸し暑い日々となりますが、湿度が低く快適な海外で研究すれば、脱水縮合反応が効率よく進むだけでなく、新たな体験ができるにちがいありません。109 号でも引き続き読者アンケートを実施いたします。ご協力のほどよろしくお願い申し上げます。

109 号アンケートフォーム URL :
<https://goo.gl/forms/uzGdcABCkov05Aa13>

(編集委員：大石 真也)

PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN
編集・発行：日本ペプチド学会
〒562-0015 箕面市稲 4-1-2
一般財団法人蛋白質研究奨励会内
発 行 日：2018 (平成 30) 年 7 月 4 日

編集委員
坂口 和靖 (担当理事)
(北海道大学大学院理学研究院)
TEL 011-706-2698, FAX 011-706-4683
E-mail : kazuyasu@sci.hokudai.ac.jp
中瀬 生彦 (大阪府立大学大学院理学系研究科)
TEL・FAX 072-254-9895
E-mail : i-nakase@21c.osakafu-u.ac.jp
北條 恵子 (神戸学院大学薬学部分子薬学部門)
TEL 078-974-4005, FAX 078-974-5689
E-mail : hojo@pharm.kobegakuin.ac.jp
大石 真也 (京都大学大学院薬学研究科)
TEL 075-753-9268, FAX 075-753-4570
E-mail : soishi@pharm.kyoto-u.ac.jp
鎌田 瑠泉 (北海道大学大学院理学研究院)
TEL 011-706-2721, FAX 011-706-4683
E-mail : kamadar@sci.hokudai.ac.jp

(本号編集担当：大石 真也)