

セレンシステインを含んだペプチド合成における ChemMatrixの有効性

Introduction

ChemMatrixは100%PEG (ポリエチレングリコール) ベースのレジンである。エーテル結合のみで構成されているため極めて安定で、マイクロウェーブ合成、水系や有機溶媒など種々の条件対応できる。さらに、大きく膨潤する特性を持っており、高いローディング量を示す。このChemMatrixレジンを、セレンシステインを含んだペプチド合成に応用することにした。

セレンシステインはシステインの硫黄(S)がセレン(Se)に置換されたアミノ酸であり、生体内に存在し、抗酸化作用をもつグルタチオンペルオキシダーゼの活性中心などに存在する。近年、セレンシステインを含んだペプチドが頻繁に合成されており、3残基のペプチドで、グルタミン酸が側鎖のカルボキシ基で結合したグルタチオンをセレン化したセレノグルタチオンが合成されている¹⁾。しかし、セレンシステインを含んだペプチドは、その不安定性や求核性により、合成が困難であった。セレノグルタチオンを合成し、通常のポリスチレンレジンと比較して ChemMatrixの有効性について検証した。

Material

セレンシステイン以外の試薬は購入して使用した。セレンシステインは東海大学理学部岩岡研究室から提供を受けた。

Fmoc-Glycine、N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide (DCC)、1-Hydroxybenzotriazole (HOBt)、Ethandithiol (EDT)、Trifluoroacetic acid (TFA)、Piperidineは東京化成。Acetonitrile、Diethylether、Thioanisole、PhenolはWako。Fmoc-Glutamic acid-OtBu、N-methylpyrrolidone (NMP)は渡辺化学。MBHA Rink amide resinはメルク。ChemMatrix Rink amide resinはバイオタージ・ジャパン。

Peptide Synthesis

H₂N-γ-Glu-Sec-Gly-COOH

ペプチドの合成には、マイクロウェーブ合成付き自動合成装置Syrowave™ (Biotage社製)を用いた。合成スケールは0.025 mmolスケールで、レジンは ChemMatrix Rink amide resin (loading 0.60 mmol/g)、MBHA Rink amide resin (loading 0.59 mmol/g)をそれぞれ用いた。ペプチドはFmocアミノ酸 (4.0 eq., 0.1 M)を用いて合成した。合成条件は、カップリングはDCC/HOBtで行い、シングルカップリングで Parallelの室温で行った。Fmocの脱保護は40%-Piperidine/NMPで3分間、20%-Piperidine/NMPで10分間、室温で行った。レジンはNMPで3回洗浄し、合成したペプチドは最後のFmoc脱保護の後、DMFで洗浄して乾燥させた。

ペプチドはTFA-Water-Phenol-Thioanisole-EDT (82.5:5:5:5:2.5)を2時間反応させてレジンから切り出した。窒素ガスを吹きつけて濃縮し、ジエチルエーテルで洗浄して凍結乾燥を行った。ペプチドを10%-Acetonitrileに溶解し、HPLCで分析した。



Peptide Analysis

ペプチドはHPLC (島津製作所) で分析し、カラムは Resolux C18 column 4.6 x 250 mm (バイオタージ・ジャパン) を用いた。グラジエントは10-25%-Acetonitrile (0.1%-TFA) で15分間、流量は1.0 mL/min、検出は 220 nmで行った。

Result

両方のレジンでセレノグルタチオンが合成できた。MBHA Rink amide resinを用いたときのPurityは 34%、ChemMatrix Rink amide resinを用いたときの Purityは77%だった。

Conclusion

ChemMatrixを用いることで、高いPurityでセレノグルタチオンを合成でき、ChemMatrixの有効性を証明することができた。

Reference

1) S. Yoshida, F. Kumakura, M. Iwaoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 2125-2128.

表1 セレノシステインを含んだペプチド合成:レジンの比較

Entry	Resin	Coupling Temperature	Coupling Time	Coupling Reagent	Synthesis Time	Purity
1	MBHA Rink amide	RT	40 min	DCC/HOBt	4 h 29 min	34%
2	ChemMatrix	RT	40 min	DCC/HOBt	4 h 29 min	77%

図1 MBHA Rink amide Resinを用いた合成

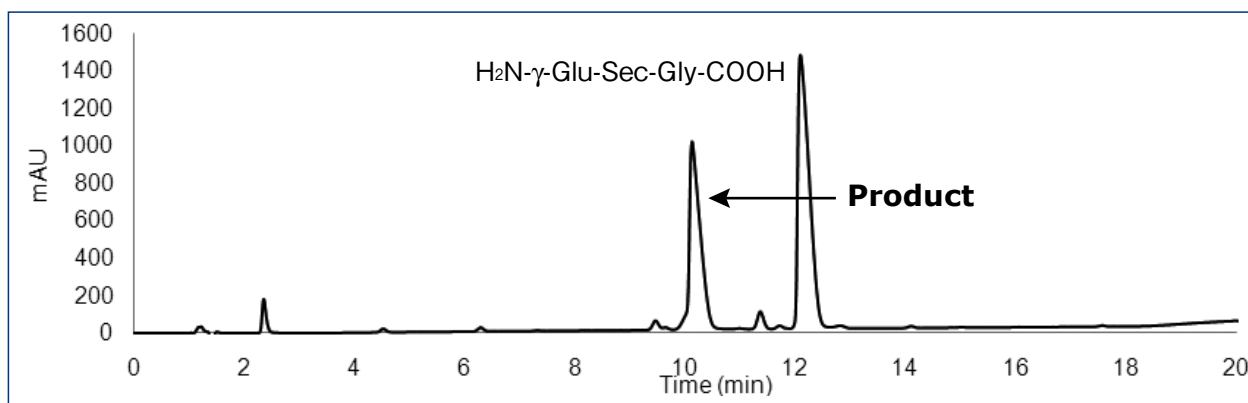
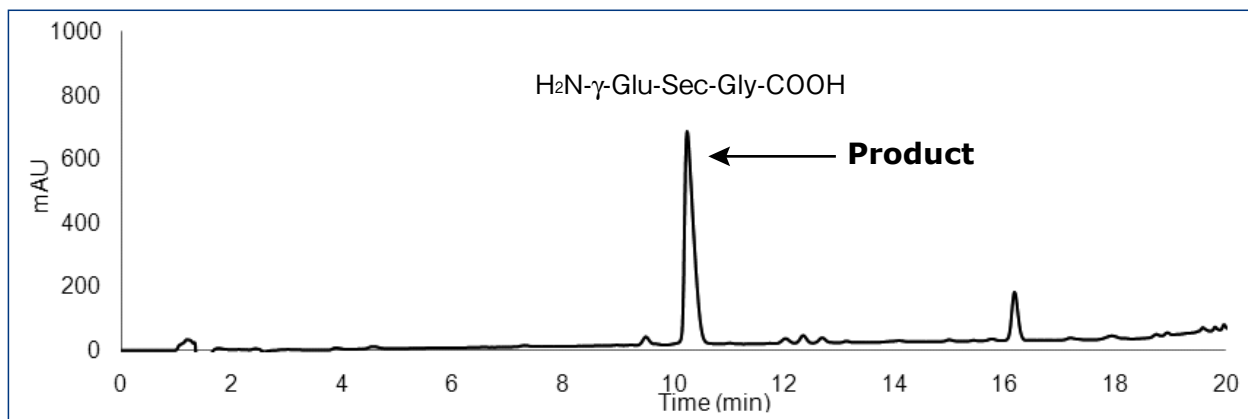


図2 ChemMatrix Rink amide Resinを用いた合成



バイオタージ・ジャパン株式会社

本社: 〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4, 6F

TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121

大阪: 〒532-0011 大阪市淀川区西中島7-1-29, 6F

TEL 06-6838-9311 FAX 06-6838-9312

URL: <http://www.biotage.co.jp/> E-mail: Japan_info@biotage.com

© 2011 Biotage. All rights reserved. All brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies. The information contained in this document is subject to change without notice.