

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月24日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04180

研究課題名(和文)カベオリンの化学合成とそのエンドサイトーシス機構解明への応用

研究課題名(英文)Chemical synthesis of caveolin

研究代表者

北條 裕信 (Hojo, Hironobu)

大阪大学・蛋白質研究所・教授

研究者番号：00209214

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、細胞膜上のくぼみであるカベオラの形成に重要な役割を果たすタンパク質、カベオリンの機能、構造を解析する目的でその全合成研究を行った。アミノ酸200残基近いカベオリンを全合成するため、全体を5つのペプチドセグメントに分割して固相法により合成し、それらを順次縮合することにより全配列へと導くこととした。カベオリンは部分的に細胞膜に埋まっているため、セグメントのいくつかは疎水性が高く溶解性が極めて低い。そこで、ペプチドの溶解性向上に効果のあるイソペプチド結合の導入によりその問題を回避した。全配列を縮合後、パルミトイル基を結合し、脱保護を経て目的とするカベオリンを得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内では絶えず細胞内外で物質、情報がやり取りされている。細胞膜上での物質の取り込み方法の一つとして、カベオラと呼ばれるくぼみを利用する方法がある。カベオラの細胞質側には、カベオリンが集積している。しかし、カベオリンが集積すればくぼみができるのか等、カベオラによる物質取り込みの詳細は不明である。カベオリンの変異は、がん等種々の疾患への関与が示唆されており、カベオリンの詳細な機能解明が望まれている。しかし、カベオリンは膜に存在するため、機能解析に必要な高純度の試料の調製が困難であった。本研究でカベオリンの化学合成法が確立できたことから、今後カベオリンの機能研究に大きく貢献できるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, the chemical synthesis of caveolin, which is an important protein for the formation of caveola, was performed. To accomplish the synthesis, the entire sequence was divided into 5, and each peptide segment was prepared by the solid-phase method. As caveolin is partly inserted in lipid bilayer, it retains highly hydrophobic character. Therefore, the O-acylisopeptide structure, which is efficient to increase the solubility of the peptide segment, was introduced to the C-terminal segments. As a result, all the segments could be synthesized and purified by high-performance liquid chromatography. The obtained segments were then condensed by our segment condensation method (The thioester method) and the polypeptide with the entire sequence of caveolin was obtained. The protecting groups at the side chain SH group of Cys residues were then removed and the palmitoyl groups were introduced. Finally, all the protecting groups were removed to obtain the desired caveolin.

研究分野：有機合成化学

キーワード：カベオリン 化学合成 特異的修飾 ライゲーション法 ペプチドチオエステル 固相合成法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体内の各細胞は、絶えず細胞内外での物質、情報のやり取りを行い、生体全体の恒常性を維持している。生体膜上におけるこのような細胞活動において最もダイナミックな過程の一つは、エンドサイトーシスと呼ばれる細胞内への物質の取り込みであろう。エンドサイトーシスには幾つかの機構があるが、クラスリンにより囲まれた小胞による輸送は非常によく研究されている。

一方、カベオラと呼ばれるくぼみから生じる小胞を経るエンドサイトーシスも知られている。カベオラは、細胞膜上のマイクロドメインと呼ばれる特殊な領域に観測される。細胞膜は流動モザイクモデルとして知られるように、流動性に富むが、最近の研究では細胞膜は均一ではなく、ところどころにコレステロールやスフィンゴ脂質と呼ばれる特殊な脂質に富むマイクロドメインがあることがわかってきた。カベオラの細胞質側には、カベオリンと呼ばれるタンパク質が集積し、くぼみの形成を促していることが明らかとなっている。しかし、カベオリンが集積すれば、くぼみができるのか、コレステロールやスフィンゴ脂質の存在は必須なのか等、カベオラを介するエンドサイトーシスに関してはほとんど理解が進んでいない。カベオリンの変異は、がん、筋ジストロフィー他、種々の疾患への関わりが示唆されており、カベオリンの機能、カベオラ形成に関する詳細な機構解明が望まれている。

カベオリンは、図1のような細胞内腔側に存在するタンパク質である。真ん中付近に存在する膜結合部位が逆V字型の構造をとることにより、細胞内外での膜の曲率を変化させてカベオラ構造の形成を促すものと考えられているが、まだ実証はされていない。カベオリンは、一次構造上、リン酸化部位、膜結合部位、脂肪酸付加部位を持つなど非常に複雑な構造を持つ。しかも、脂肪酸の付加、膜結合部位の存在により、通常のタンパク質に比較して高度に疎水性となっている。これらの構造の複雑さ、およびタンパク質としての性質の特異さが、カベオリンの機能、構造解析を困難にする一つの原因である。また、リン酸化、脂肪酸付加等の翻訳後修飾のため、大腸菌による発現もうまく行かない。機能解析に適したカベオリンを調製するのが困難なのが現状である。

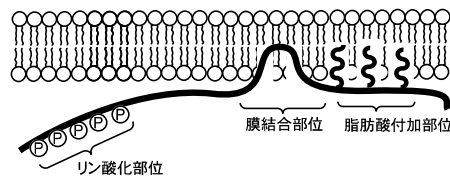


図1. カベオリンの構造.

2. 研究の目的

本研究では、我々の開発したタンパク質合成法(チオエステル法)をもとに、カベオリンの化学合成ルートを確立し、その全合成を達成するために行った。その途上、カベオリンの高い疎水性に由来する問題点を解決することにより、膜タンパク質の化学合成に一般的に使用できる方法の開発を目指すこととした。

3. 研究の方法

(1) セグメントの分割位置の決定

筆者らは、1991年に世界に先駆けて効率的なタンパク質合成法(チオエステル法, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **64**, 111 (1991))の開発に成功した。この方法は、ペプチドチオエステルを鍵中間体とする現在のタンパク質合成法の基礎となっている。この方法では、目的とするタンパク質を幾つかのセグメントに分割して固相法を用いてペプチドチオエステルを合成し、HPLCにより精製した後、チオエステル基を活性化してC末端ペプチドと縮合する(図2)。

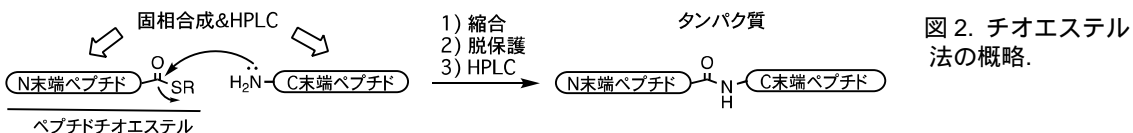


図2. チオエステル法の概略.

カベオリンの配列を図3に示す。当初、N末端側をチオエステル法にて、C末端側をKentらにより開発されたNative chemical ligation (NCL, *Science*, **266**, 776 (1994))法により縮合する方法を検討した。NCL法では、CysのN末端側で無保護のペプチド鎖同士を結合できる。そこで、P²⁷, G⁷⁷, G¹¹⁶ (以上チオエステル法による縮合), Q¹⁴² (NCL法による縮合)

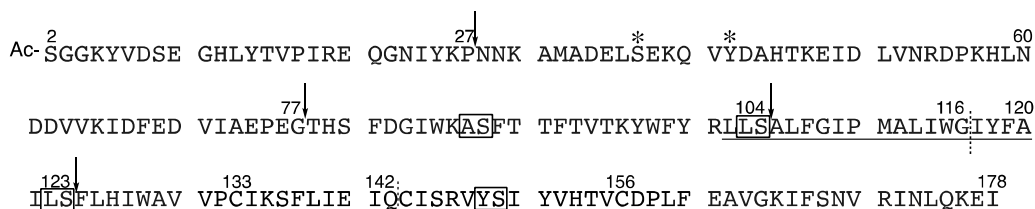


図3. カベオリンの構造。下線部は膜中に存在する部位。四角で囲んだ残基はイソペプチド構造を導入した部位。*はリン酸基導入部位。

のC末端側での縮合を試みた。しかし、実際に合成してみると、C末端側のセグメントの溶解性が極めて低く、反応の進行がほとんど見られなかった。MuirらによりNCL法で疎水性の高いイオンチャンネルの合成が達成され、その際、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を添加するとNCLが効率よく進行することが報告されている(*J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9113 (2001))。しかし、カベオリンの合成に適用してみたところ、SDSの非存在下よりは収率が向上したものの、目的物の収率は極めて低いことが明らかとなった。このため水溶液中で縮合反応を行うNCL法は、カベオリンのような疎水性の高いタンパク質にはあまり有効ではないことが示唆された。そこで改めて P^{27} 、 G^{77} 、 $S^{104,123}$ を分割位置として、すべてチオエステル法による縮合を行うこととした。以下その結果を報告する。

(2) セグメントの調製

A. イソペプチド結合形成による溶解性向上法の導入

カベオリンの100残基目以降は膜に埋まっている領域、パルミトイル化されて膜と相互作用する領域から構成されており、この領域をいかに可溶化するかがカベオリン合成達成の鍵となる。そこで固相法によるペプチド鎖伸長の際、図3のアミノ酸配列中、四角で囲ったアミノ酸のところ、木曾らによって見出された溶解性の向上に寄与するO-アシルイソペプチド結合を導入することとした(図4, *Chem. Commun.* **124** (2004))。イソペプチド部位の α -アミノ基がプロトン化されている限り、この構造は維持されるが、中性条件になると速やかにもとのアミド結合を再生させることができる。このため、合成途上は可溶性の高い状態を保持して反応性を向上させつつ、最終段階で天然型のタンパク質を再生することができる。我々は、この方法を利用していくつかの疎水性の高いタンパク質の合成に成功している(*Org. Biomol. Chem.*, **14**, 6368 (2016))。

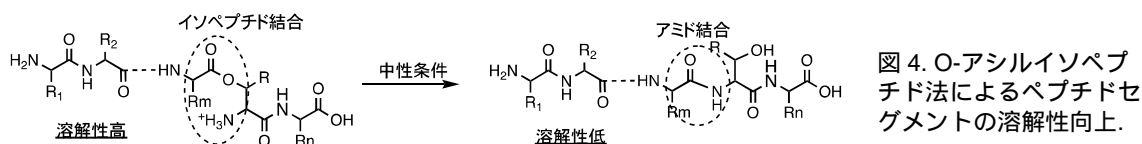


図4. O-アシルイソペプチド法によるペプチドセグメントの溶解性向上。

B. N-アルキルシステインを用いたチオエステル調製法の適用

チオエステル法による縮合を行うため、一番C末端のペプチドセグメント以外はチオエステルとして合成する必要がある。しかし、現在固相合成の主流として用いられる9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)法では、ペプチド鎖伸長中に用いられるピペリジンによりチオエステル結合が分解するため、ペプチドチオエステルを直接的に固相合成することは困難である。そこで(2-27)、(28-77)のセグメントについては、我々のグループで開発したN-アルキルシステイン(NAC)を用いるチオエステル化法(図5, *Tetrahedron Lett.*, **48**, 25 (2007))により調製することとした。この方法では、まず、NACを樹脂に導入した後、通常のFmoc法でペプチド鎖を伸長する。脱保護の後、チオールを加えると速やかにNAC部位でのチオエステル交換が起こり、ペプチドチオエステルを効率的に得ることができる。

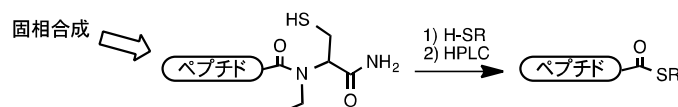


図5. N-アルキルシステインを利用したペプチドチオエステル合成法。

C. イソペプチド構造導入によるラセミ化抑制法を用いた縮合

ペプチドセグメント同士を縮合する際、縮合部位のC末端アミノ酸がラセミ化しやすいことはよく知られている。このためチオエステル法では主にGly、Pro残基のC末端側でのライゲーションが行われる。しかし、カベオリンの場合、100残基以降、ライゲーション部位として好適な位置にGly残基がないため、 S^{104} 、 S^{123} を分割位置として設定した。そして L^{103} と S^{104} 、 L^{122} と S^{123} の間にイソペプチド結合を導入することにより、ラセミ化なくセグメント縮合を行うこととした。イソペプチド結合の形成により S^{104} 、 S^{123} は α -アミノ基にウレタン型保護基を持つことになり、セグメント縮合の際に活性化されてもラセミ化しないことが報告されている(図6, *J. Pept. Sci.*, **16**, 437 (2010))。これを実現するためには、ペプチドのC末端にイソペプチドチオエステルを形成させる必要がある。このことを実現するためには、現在のところt-butoxycarbonyl (Boc)法が有効である。そこで、(78-104)と(105-123)のセグメントについては、あらかじめ合成したイソジペプチドをSH基を持つ樹脂と反応させチオエステル結合を形成させた後、Boc法による合成を行うこととした。

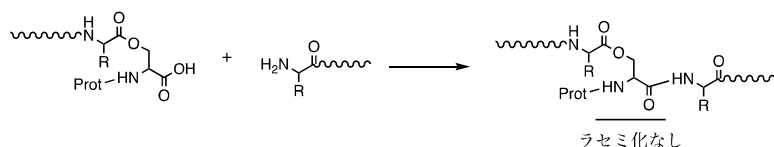


図6. イソペプチド部位での縮合。

(4) 全体の合成ルート

以上の検討をふまえ、全体の合成ルートを図7のようにデザインした。

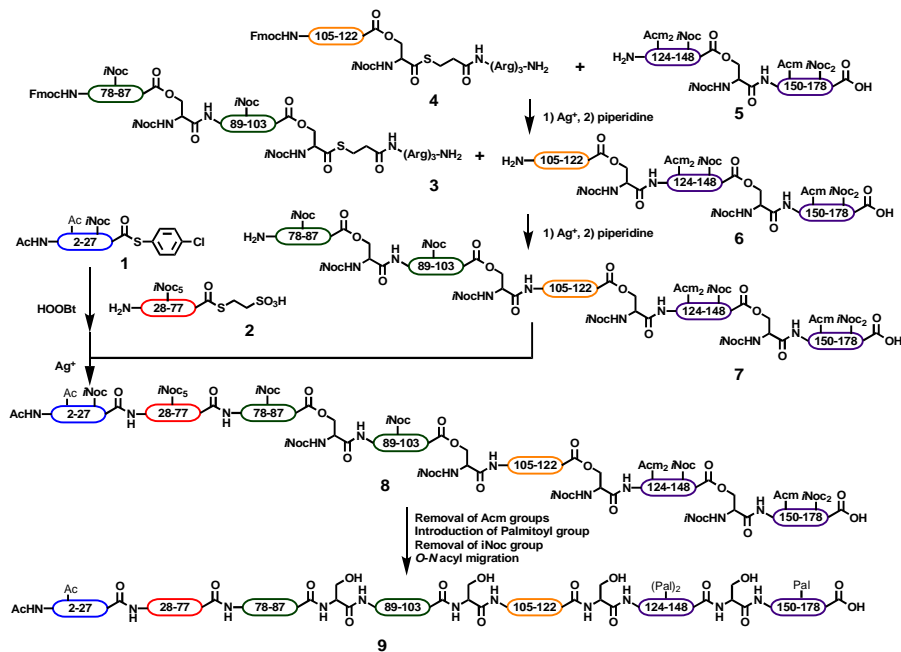


図7. カベオリンの全合成ルート。

4. 研究成果

(1) イソジペプチドユニットの合成

カベオリン配列中のAS、LS、YS間でイソペプチド結合を形成させるため、図8に従いジペプチドを合成した。いずれのジペプチドも収率よく合成することができた。Serの -アミノ基の保護基として用いている pyridylmethoxycarbonyl (iNoc) 基は、固相合成後の脱保護の段階では安定で、最終段階で亜鉛酢酸により選択的に除去できるため、合成の最終段階までイソペプチド結合を安定に保持し、溶解性を高く保つことが可能である。

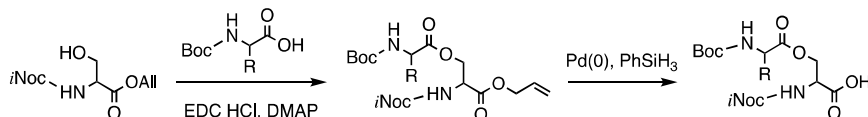


図8. イソジペプチドの合成。

(2) セグメントの固相合成

セグメント1, 2はNACを持つ樹脂を出発物質として、Fmoc法により合成した。脱保護後、セグメント1は、クロロチオフェノール、2はメルカプトエタンスルホン酸と反応させてチオエステルへと変換した。両者とも溶解性がよく問題なく合成が可能であった。セグメント2については、Ser³⁷とTyr⁴²にリン酸基を持つものも同様にして合成した。

セグメント3, 4はいずれもC末端にイソジペプチドチオエステルを持つ。イソペプチド結合は若干活性化された結合であるため、NAC法を用いて最後にチオエステル化をすると、結合の分解が予想された。そこで2つのセグメントは、SH基を持つ樹脂上でイソジペプチドを導入し、Boc法による合成を行なった。その結果、予想通りイソペプチドの分解等の副反応が観測された。イソジペプチドの導入法を種々検討することにより、副反応がかなり抑制され、許容できる収率でこれらのペプチドを得ることができた。C末端のセグメントは、3つのパルミトイル基を持つ。しかしその高い疎水性により、パルミトイル基の導入により溶解性や縮合効率の低下が予想されたため、パルミトイル基の導入はセグメント縮合後に行うこととした。そのため、セグメント5は通常のFmoc法により合成を行なった。

(3) セグメント縮合

筆者らは、ワンポットで3つのセグメントを連続的に縮合する方法を開発した (*Angew. Chem. Int. Ed.*, **52**, 9733 (2013)). この合成においてもそれを適用した。ただし全体で5つのセグメントに分割しているため、まずC末端のセグメント4と5を縮合した。末端のFmoc基を除去した後ゲルろ過クロマトグラフィーにより精製し、凍結乾燥のちセグメント3との縮合を行なった。そして、Fmoc基の除去、精製の後セグメント7を得た。

ついで、セグメント1, 2, 7を順次ワンポットで縮合し、カベオリンの全長配列を持つセグメント8を得ることに成功した。システインの側鎖SH基の保護基アセタミドメチル基を銀イオンにより除去し、ゲルろ過クロマトグラフィーにより精製した後、パルミチン酸の活性エステルを用いてSH基にパルミチン酸をチオエステル結合させた。HPLC上でのピークの

消失をもってパルミチン酸導入の完了を判断した。ついで、SDS 存在下で亜鉛粉末処理することにより、iNoc 基の除去を行った。その後、SDS を含有する水溶液に対して透析することにより、最終目的物であるカベオリン 9 を得た。また、ワンポット合成の際、セグメント 2 については、Ser³⁷ と Tyr⁴² にリン酸基を持つものを使用することにより、最終的にリン酸基を 2 つもつカベオリンを得ることに成功した。

以上のように、化学合成を通して特異的な修飾を持つカベオリンの合成に成功し、その機能解析を行う基盤を確立することができた。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 19 件)

1. Glycopeptide synthesis based on a TFA-labile protection strategy and one-pot four-segment ligation for the synthesis of O-glycosylated histone H2A, Y. Asahina, T. Kawakami, H. Hojo, *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 1915–1920 (2019)(査読あり). DOI: 10.1002/ejoc.201801885
2. Revalidation of recombinant aequorin as a light emission standard: Estimation of specific activity of Gaussia luciferase, S. Inouye, H. Hojo, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **507**, 242-245 (2018) (査読あり). DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.11.015
3. Heat-induced aggregation of hen ovalbumin suggests a key factor responsible for Serpin Polymerization, M. Noji, M. So, K. Yamaguchi, H. Hojo, M. Onda, Y. Akazawa-Ogawa, Y. Hagihara, Y. Goto, *Biochemistry*, **57**, 5415–5426 (2018) (査読あり). DOI: 10.1021/acs.biochem.8b00619
4. Synthesis of selenocysteine-containing cyclic peptides via tandem N-to-S acyl migration and intramolecular selenocysteine-mediated native chemical ligation, S. Shimodira, T. Takei, H. Hojo, M. Iwaoka, *Chem. Commun.*, **54**, 11737-11740 (2018) (査読あり). DOI: 10.1039/c8cc06805d
5. Characterization and optimization of two-chain folding pathways of insulin via native chain assembly, K. Arai, T. Takei, R. Shinozaki, M. Noguchi, S. Fujisawa, H. Katayama, L. Moroder, S. Ando, M. Okumura, K. Inaba, H. Hojo, M. Iwaoka, *Commun. Chem.* **1**:26 (2018) (査読あり). DOI: 10.1038/s42004-018-0024-0
6. Sialyl Tn Unit with TFA-Labile Protection Realizes Efficient Synthesis of Sialyl Glycoprotein, N. Takeda, T. Takei, Y. Asahina, H. Hojo, *Chem. Eur. J.*, **24**, 2593-2597 (2018) (査読あり). DOI: 10.1002/chem.201706127
7. Development of SAAP3D force field and the application to replica-exchange Monte Carlo simulation for chignolin and C-peptide. M. Iwaoka, T. Suzuki, Y. Shoji, K. Dedachi, T. Shimosato, T. Minezaki, H. Hojo, H. Onuki, H. Hirota, *J Comput Aided Mol Des.* **31**, 1039-1052 (2017) (査読あり). DOI: 10.1007/s10822-017-0084-8.
8. An N-protection free ligation of the peptide thioester and the peptide with N-alkoxy- or N-aryloxyamino group at its N-terminus, H. Hojo, T. Kawakami, Y. Hiroshima, S. Aimoto, *Tetrahedron Lett.*, **58**, 4638-4641 (2017) (査読あり). DOI: 10.1016/j.tetlet.2017.10.074
9. Structure of the Dnmt1 reader module complexed with a unique two-mono-ubiquitin mark on histone H3 reveals the basis for DNA methylation maintenance, S. Ishiyama, A. Nishiyama, Y. Saeki, K. Moritsugu, D. Morimoto, L. Yamaguchi, N. Arai, R. Matsumura, T. Kawakami, Y. Mishima, H. Hojo, S. Shimamura, F. Ishikawa, S. Tajima, K. Tanaka, M. Ariyoshi, M. Shirakawa, M. Ikeguchi, A. Kidera, I. Suetake, K. Arita, M. Nakanishi, *Mol. Cell*, **68**, 350–360 (2017) (査読あり). DOI: 10.1016/j.molcel.2017.09.037
10. One-pot four-segment ligation using seleno- and thioesters: synthesis of superoxide dismutase, T. Toshiki, A. Tomoshige, T. Toshifumi, H. Hojo, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **56**, 15708-15711 (2017) (査読あり). DOI: 10.1002/anie.201709418
11. RFTS-dependent negative regulation of Dnmt1 by nucleosome structure and histone tails, Y. Mishima, L. Brueckner, S. Takahashi, T. Kawakami, K. Arita, S. Oka, J. Otani, H. Hojo, M. Shirakawa, A. Shinohara, M. Watanabe, I. Suetake, *FEBS J.*, **284**, 3455–3469 (2017) (査読あり). DOI: 10.1111/febs.14205
12. Regulation of CCR7-dependent cell migration through CCR7 homodimer formation, D. Kobayashi, M. Endo, H. Ochi, H. Hojo, M. Miyasaka & Haruko Hayasaka, *Sci. Rep.*, **7**, 8536 (2017) (査読あり). DOI: 10.1038/s41598-017-09113-4
13. Total synthesis and antibacterial investigation of plusbacin A3, A. Katsuyama, A. Paudel, S. Panthee, H. Hamamoto, T. Kawakami, H. Hojo, F. Yakushiji, S. Ichikawa, *Org. Lett.*, **19**, 3771–3774 (2017) (査読あり). DOI: 10.1021/acs.orglett.7b01629
14. Synthesis of ubiquitylated histone H3 using a thirane linker for chemical ligation, T. Kawakami, Y. Mishima, H. Hojo, I. Suetake, *J. Pept. Sci.*, **23**, 532–538 (2017) (査読あり). DOI: 10.1002/psc.2976
15. Pyrrole-based macrocyclic small-molecule inhibitors that target oocyte maturation, P. Gunasekaran, S. R. Lee, S. M. Jeong, J. W. Kwon, T. Takei, Y. Asahina, G. Bang, S. Kim, M. Ahn, E. K. Ryu, H. N. Kim, K. Y. Nam, S. Y. Shin, H. Hojo, S. Namgoong, N. H. Kim, J. K. Bang, *ChemMedChem*, **12**, 580-589 (2017) (査読あり). DOI: 10.1002/cmdc.201700048
16. Preparation of selenoinsulin as a long-lasting insulin analogue, K. Arai, T. Takei, M. Okumura, S. Watanabe, Y. Amagai, Y. Asahina, L. Moroder, H. Hojo, K. Inaba, M. Iwaoka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**, 5522-5526 (2017) (査読あり). DOI: 10.1002/anie.201701654
17. One-pot native chemical ligation by combination of two orthogonal thioester precursors, Y. Asahina, T. Kawakami, H. Hojo, *Chem. Commun.*, **53**, 2114-2117 (2017) (査読あり). DOI: 10.1039/c6cc10243c
18. Variation of free-energy landscape of the p53 C-terminal domain induced by acetylation: enhanced conformational sampling, S. Iida, T. Mashimo, T. Kurosawa, H. Hojo, H. Muta, Y. Goto, Y. Fukunishi, H. Nakamura, J. Higo, *J. Comp. Chem.*, **37**, 2687-2700 (2016) (査読あり). DOI: 10.1002/jcc.24494
19. Enthalpy-driven interactions with sulfated glycosaminoglycans promote cell membrane penetration of arginine peptides, Y. Takechi-Haraya, R. Nadai, H. Kimura, K. Nishitsuji, K. Uchimura, K. Sakai-Kato, K. Kawakami, A. Shigenaga, T. Kawakami, A. Otaka, H. Hojo, N. Sakashita, H. Saito, *Biochim. Biophys. Acta*, **1858**, 1339-1349 (2016) (査読あり). DOI: 10.1016/j.bbamem.2016.03.021

[学会発表] (計 22 件)

1. Y. Asahina, T. Kawakami, H. Hojo, Synthesis of histone H2A carrying O-(N-acetylglucosamine) by using novel GlcNAc-Ser unit and one-pot ligation method, 55th Japanese Peptide Symposium (10th International Peptide Symposium, 3rd -7th December, 2018, Kyoto, Japan).
2. Y. Nimura, K. Kabayama, Y. Asahina, S. Hanashima, H. Hojo, M. Murata, K. Fukase, Analysis of electrostatic interaction of transmembrane peptide of insulin receptor with ganglioside GM3, 55th Japanese Peptide Symposium (10th International Peptide Symposium, 3rd -7th December, 2018, Kyoto, Japan).
3. T. Kawakami, M. Takazawa, Y. Mishima, H. Hojo, I. Suetake, Chemical synthesis of ubiquitinated histone H3, 55th Japanese Peptide Symposium (10th International Peptide Symposium, 3rd -7th December, 2018, Kyoto, Japan).
4. H. Hojo, Efficient synthesis of protein using peptide seleno- and thioesters 17th Akabori Conference, 1st-5th September, 2018, Bodensee, Germany.
5. H. Hojo, Use of selenoester for the efficient synthesis of protein, 35th European Peptide Symposium, 26th-31st August, 2018, Dublin, Ireland.
6. H. Hojo, Use of selenium for protein synthesis, 15th Chinese International Peptide Symposium, 3rd-6th July, 2018, Shenzhen, China.
7. H. Hojo, New strategy for chemical Protein Synthesis, 22nd Korean Peptide Protein Society Symposium, 25th-26th June, 2018, Yeosu, Korea.
8. Y. Asahina, T. Kawakami, H. Hojo, Application of orthogonal thioester precursors to the one-pot synthesis of histone H4, 25th American Peptide Symposium (8th International Peptide Symposium), 17th-22nd June, 2017, Whistler, Canada.
9. H. Hojo, T. Kawakami, Y. Hiroyama, S. Aimoto, A novel N-protection-free ligation based on the thioester method, 54th Japanese Peptide Symposium, 20th -22nd November, 2017, Osaka, Japan.
10. Y. Asahina, T. Kawakami, H. Hojo, Chemical synthesis of N-acetylglucosaminylated histone H2A by the one-pot four-segment ligation method, 54th Japanese Peptide Symposium, 20th -22nd November, 2017, Osaka, Japan.
11. T. Kawakami, Y. Mishima, H. Hojo, I. Suetake, Histone ubiquitination via an isopeptide mimetic structure by using a thiirane linker, 54th Japanese Peptide Symposium, 20th -22nd November, 2017, Osaka, Japan.
12. Takei, M. Iwaoka, H. Hojo, Synthetic study of the selenocysteine-substituted ferredoxin, 54th Japanese Peptide Symposium, 20th -22nd November, 2017, Osaka, Japan.
13. Y. Asahina, T. Kawakami, H. Hojo, Study for development of the one-pot ligation by using two orthogonal thioesterification devices, 53rd Japanese Peptide Symposium, 26th -28th October, 2017, Kyoto, Japan.
14. H. Hojo, A new strategy for the synthesis of proteins, IV International Symposium on Synthetic Peptides, 22nd-25th June, 2017, Cayo Santa Maria, Cuba.
15. N. Takeda, Y. Asahina, T. Takei, H. Hojo, Synthesis of O-sialylglycopeptide using TFA-labile protecting group, 25th American Peptide Symposium (8th International Peptide Symposium), 17th-22nd June, 2017, Whistler, Canada.
16. T. Takei, H. Hojo, Synthetic study of the selenocysteine-substituted ferredoxin, 25th American Peptide Symposium (8th International Peptide Symposium), 17th-22nd June, 2017, Whistler, Canada.
17. 竹田直樹、武居俊樹、朝比奈雄也、北條裕信、4-メチルベンジル基を用いた α -シアリル糖ペプチドの合成研究、第35回日本糖質学会年会2016年9月1日-9月3日、高知。
18. H. Hojo, Y. Asahina, Y. Nakahara, Chemical synthesis of human interleukin-2 carrying core-1 O-linked sugar, 34th European Peptide Symposium, 8th International Peptide Symposium, 4th-9th September, 2016, Leipzig, Germany.
19. Y. Asahina, Y. Nakahara, H. Hojo, Chemical synthesis of hydrophobic glycoprotein, The 14th Chinese International Peptide Symposium, 5th APIPS, 4th-7th July, 2016, Nanjing, China.
20. 北條裕信、化学合成を利用したタンパク質、糖タンパク質の機能解明研究、第16回日本蛋白質科学会年会、2016年6月9日。
21. H. Hojo, Synthesis of hydrophobic glycoprotein, Simposio Internacional de Química, 7th-10th June, 2016, Cayo Santa Maria, Cuba.
22. Y. Asahina, Y. Nakahara, S. Akira, H. Hojo, Chemical synthesis of hydrophobic glycoprotein, The 16th Akabori Conference, 24th-25th May, 2016, Kobe, Japan.

〔図書〕(計2件)

1. 北條裕信、川上徹: 中分子創薬に資するペプチド・核酸・糖鎖の合成技術 (千葉一裕監修)、第2章「ペプチドチオエステルの合成とタンパク質合成への利用」, pp. 28-34、シーエムシー出版、2018.
2. H. Hojo, Chemical synthesis of glycoproteins by the thioester method in Chemical Ligation (L.D. D'Andrea and A. Romanelli eds.) pp. 251-268, Wiley, 2017.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/organic/index.html>

6. 研究組織

(1) 連携研究者

佐藤 毅 (SATO Takeshi)

京都薬科大学・一般教育分野・教授

研究者番号: 90403013