

平成23年 5月 31日現在

機関番号： 82401

研究種目： 若手研究(B)

研究期間： 2009～2010

課題番号： 21750137

研究課題名(和文)

含フッ素アミノ酸のペプチドナノチューブよりなる新規人工イオンチャネルの創成

研究課題名(英文) Novel ion channel analogues by peptide nanotubes containing fluorinated amino acids

研究代表者

石田 康博 (ISHIDA YASUHIRO)

独立行政法人理化学研究所・生体模倣材料研究チーム・チームリーダー

研究者番号： 20343113

研究成果の概要(和文)：

我々が独自に不斉合成法を確立してきた含フッ素βアミノ酸をペプチド中に導入することで、フッ素特有の効果に基づくペプチドの構造制御を行った。主な成果として、(1) 光学的に純粋な含フッ素βアミノ酸の大量合成法の確立(数十グラムスケールの合成)、(2) 含フッ素βアミノ酸の縮合反応の確立(N末端およびC末端方向のペプチド結合伸長)、(3) 含フッ素βアミノ酸のペプチド工学への応用(βアミノ酸環状4量体およびβアミノ酸鎖状6量体らせんへの導入)が挙げられる。

研究成果の概要(英文)：

Facile control of the secondary structure of beta-peptides was attempted, by introducing fluorinated beta-amino acids in the peptides. Our achievements include (1) large-scale asymmetric synthesis of enantiopure fluorinated beta-amino acids, (2) establishing the peptide elongation of fluorinated beta-amino acids, and (3) application of fluorinated beta-amino acids to peptide engineering.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：βアミノ酸・フッ素化アミノ酸・ペプチド・自己組織化・水素結合・大環状化合物・らせん・ナノチューブ

1. 研究開始当初の背景

生物が示す複雑な動作の原点を辿ると、細胞が膜内外の環境に応答して電気信号を発生させる現象まで単純化される。この信号発生を司るのはイオンチャネルであり、その構造と機能に関する知見を得ることは、生命現象を分子レベルの事象として理解することに直結する。しかしながら、天然に存在するイオンチャネルの多くは巨大で複雑な構造を持つペプチドやタンパク質であり、これらを統一的に理解することは決して容易ではない。チャネルの構造と性質についての知見を深め、また天然にない機能を能動的に発現させるためには、天然イオンチャネルの特徴を継承しながらも極限まで構造単純化した人工モデルの構築は重要である。

2. 研究の目的

本研究では、既往の人工イオンチャネルの中でも特殊な位置付けにある環状オリゴペプチド/膜貫通ペプチドを基本モチーフとし、その骨格中に申請者らが独自に不斉合成法を確立してきた含フッ素βアミノ酸を導入することで、構造の単純化・機能改変の可能性・分析の容易性を突き詰めた人工イオンチャネルの新モデルを提供することを目的とする。含フッ素アミノ酸の導入は、ペプチド工学の新機軸として、その重要性が近年急速に認知されつつある。本研究の場合も、含フッ素アミノ酸の導入により、βアミノ酸環状4量体/膜貫通ペプチドに元来備わる特徴を損なうことなく、更なる機能改変の余地・利便性の高い分析手段がつけ加わると期待される。

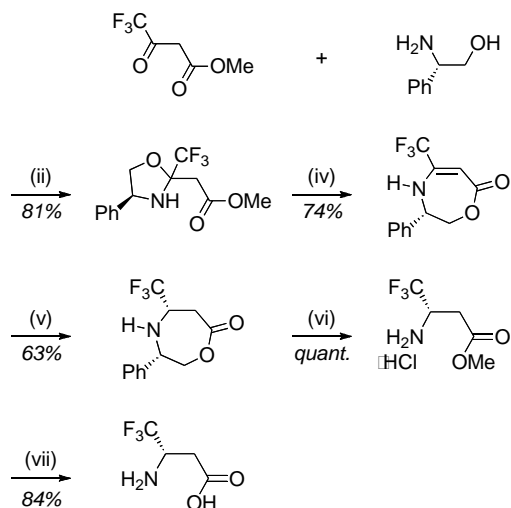
3. 研究の方法

申請者らがこれまでに合成法を確立してきた含フッ素βアミノ酸をペプチド構造制御へと応用する端緒として、βアミノ酸環状4量体およびペプチドラせん構造への導入を検討する。得られたペプチド環状量体およびペプチドラせんの構造解析を種々の測定法を用いて行なう。特に結晶性の高いものについては、単結晶構造解析を行う。

4. 研究成果

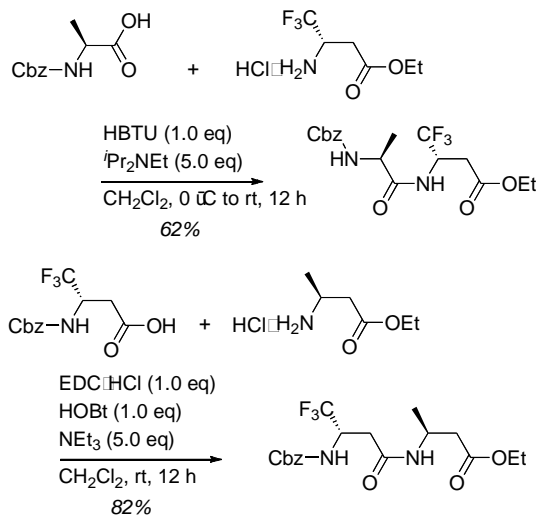
(1) フッ素βアミノ酸の合成と縮合：

本研究を申請した時点で、β位にペルフルオロアルキル基を持つβアミノ酸の実践的な不斉合成法を概ね確立していたが、収率や再現性に難のあるステップが存在していた。この段階の実験手法



(i) $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (1 eq), CH_2Cl_2 , reflux, 12 h; (ii) $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (3 eq), CHCl_3 , reflux, 12 h; (iii) SnBr_4 (0.3 eq), *o*-xylene, 130 °C, 4 h; (iv) NaBH_3CN (1.2 eq), HCl (10 eq), CH_2Cl_2 /dioxane (2:1, v/v), -78 °C to rt, 96 h; (v) H_2 (1 atm), Pd/C (cat.), HCl (10 eq), MeOH/dioxane (9:1, v/v), 16 h; (vi) HCl aq (3 M), reflux, 12 h, then propylene oxide (excess), MeOH, rt.

Scheme 1. 含フッ素βアミノ酸の不斉合成



Scheme 2. 含フッ素βアミノ酸のペプチド伸長

を最適化することにより、光学的に純粋な含フッ素βアミノ酸を数十グラムのスケールで再現よく合成することが可能となった。

(Scheme 1, 全4ステップ, 全収率48%, >99% ee)。特筆すべきは、全工程を通じ高価な試薬・特殊な技法や装置・クロマトグラフィーによる精製を全く必要としない点である。また、この含フッ素βアミノ酸の縮合反応の条件を最適化することにより、N末端およびC末端のいずれの方向においても良好な収率でペプチド結合を形成する手法が確率された (Scheme 2)。

(2) βアミノ酸環状4量体への導入：

β位にトリフルオロメチル基を持つβアミノ酸ならびに(R)-ホモアラニン (=左記の含フッ素アミノ酸のフッ素原子を水素原子に置き換え、さらに不斉炭素の立体を反転させたアナログ体) を交互に縮合した鎖状4量体を合成し、その両末端を脱保護した後に希薄条件下にて縮合反応を行うことにより、ペプチドの環状4量体を得た。得られた環状4量体の単結晶 X線結晶構造解析を行ったところ、アミドの水素結合が3次元状に広がったネットワーク構造を自発的に形成することが明らかとなった。フッ素を含まないβアミノ酸の環状4量体は一般に一次元カラム状集合構造を取ることが知られているため、今回観察された水素結合ネットワークの変化はフッ素原子導入の影響によるものであることが強く示唆された (Figure 1)。

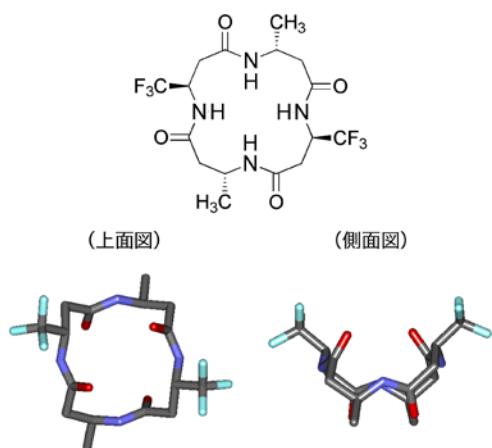


Figure 2. 含フッ素βペプチド環状4量体のX線結晶構造

(3) ペプチドらせん構造への導入：

β-アミノ酸からなるペプチドの中でも、trans-2-アミノシクロヘキサンカルボン酸よりなるオリゴマーは、安定な₃₁₀らせん構造を形成することが知られている。そこで、この6量体の一部を含フッ素アミノ酸にて置き換えた新規ペプチドを合成し、フッ素化され

ていない原系との2次構造の差異を精査した。その結果、極めて興味深いことに、フッ素導入によりこのらせん構造が速度論的にも熱力学的にも安定化されることが明らかとなった (Figure 2)。

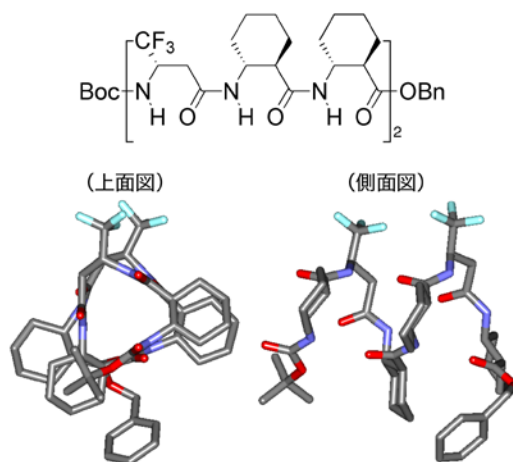


Figure 2. 含フッ素βペプチドらせんのX線結晶構造

(4) 結言：

これまでの含フッ素アミノ酸のペプチド工学では、主鎖から離れた位置のフッ素の効果を利用することが殆どであった。今回の結果は、適切なフッ素導入がペプチド主鎖の構造/性質を制御するための有用な新ツールであることを強く示唆するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計1件)

① “A practical method to access enantiopure β-perfluoroalkyl-β-amino acids: diastereoselective reduction of cyclic enamino-esters.”

Yasuhiro Ishida, Nobutaka Iwahashi, Nao Nishizono, and Kazuhiko Saigo

Tetrahedron Letters **2009**, 50, 1889-1892.

査読あり

〔学会発表〕 (計2件)

① “含フッ素βアミノ酸の不斉合成とペプチド工学への応用”

石田 康博

日本化学会 関東支部会 第4回関東支部大会 (2010年8月31日、つくば)

② “Self-disproportionation of chiral cyclic dipeptides through homochiral polymerization.”

Yasuhiro Ishida

238th ACS National Meeting (Aug. 16, 2009, Washington, U.S.A.)

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 康博 (ISHIDA YASUHIRO)

独立行政法人理化学研究所・生体模倣材料研
究チーム・チームリーダー

20343113

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし