

## エドマン分解法を代替する塩基誘導ペプチド配列決定法

ペプチドのアミノ酸配列決定は、タンパク質の機能解明、創薬、合成生物学の進展に不可欠な基盤技術である。この分野では、1950年にEdmanによって開発されたエドマン分解法が、75年近くにわたり標準手法として広く利用されてきた<sup>1)</sup>。しかし、エドマン分解は反応工程に強酸であるトリフルオロ酢酸を使用する制約を有している。Deolらは塩基のみを利用したN末端アミノ酸分解法開発のため、N-hydroxysuccinimideを脱離基、hydrazinecarboxamideを求核部位に持つDR3を設計した<sup>2)</sup>。DR3は迅速・高収率にN末端導入され、1%水酸化物塩(Ba(OH)<sub>2</sub>)の温和な塩基条件下、隣接アミドへの分子内攻撃と六員環化を経てN末端アミノ酸を脱離させ、一残基短縮したペプチドを残留させる。この工程を繰り返し、配列を順次決定する(図1)。

DR3は20種類すべてのN末端アミノ酸で高収率の除去を達成し、一部(Cys, Gluなど)に既知の副反応傾向が見られるものの、条件最適化や前処理で実用域に到達し、モデルペプチドでは60℃、2時間の反応で90%程度N末端アミノ酸の脱離が進行した。消化ウシ血清アルブミン由来の複合ペプチド混合物に対してもDR3導入は高効率であり、続く塩基処理により配列端が切断された。

本手法は、トリフルオロ酢酸処理で問題となるDNAのデプリン化を最小限とし、DNAバーコード連結のような酸感受性要素を伴う次世代タンパク質シーケンシング系への適合性が強く示唆された。

総じて、本研究は「酸に依存しないN末端段階分解」という未踏の実装を達成し、酸不耐の蛍光色素や核酸を守りつつシーケンス可能な選択肢を提供する。今後、固相法への展開により精製工程を省略したスループット向上が期待される。本ペプチド配列決定法は、フルオロシーケンシングやDNAバーコード型手法、ナノボア等の新興技術と相補的に、次世代プロテオミクスの基盤技術としての発展が見込まれる。

- 1) P. Edman, E. Högfeldt, L. G. Sillén, P.-O. Kinell : *Acta. Chem. Scand.*, **4**, 283 (1950).
- 2) H. Deol, A. Raeisbahrani, P. H. T. Ngo, J. Swaminathan, O. Papoulas, E. M. Marcotte, E. V. Anslyn : *J. Am. Chem. Soc.*, **147**, 13973 (2025).

[関西医科大学 近藤 直哉]

## 特殊なシクロデキストリンの合成と分子認識素子としての応用

物質間の特異的な相互作用である分子認識は、分析化学研究においても重要な役割を担い続けてきた。その中で、大環状オリゴ糖であるシクロデキストリン(CyD)は、分析化学の研究分野では代表的な分子認識素子として長年用いられてきた。CyDはキラルな疎水性空孔を有し、水中で様々な分子と包接錯体を形成する。この錯形成を分子認識機構として利用することで、これまで様々な分析試薬や分離技術が開発されている<sup>1)</sup>。そこで本欄ではこのCyDの科学に着目し、主にCyDの合成に関する最先端の研究を紹介する。

一般的なCyDである $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CyD(それぞれ6, 7, 8分子のD-グルコースから成る)に対し、より大きなサイズの空孔を持つものとして、9分子のD-グルコースから成る $\delta$ -CyDが知られている。ただ、その合成には26段階もの操作が必要であり、包接錯形成の熱力学的な評価をするための十分な試薬量を得ることができなかった。最近、Hansenらは1段階反応による $\delta$ -CyDの大量合成法の確立に成功した<sup>2)</sup>。CyD合成酵素による $\alpha$ -CyDの加水分解及び再環状化反応を、鋳型であるホウ素クラスター化合物の存在下において進行させることで、 $\delta$ -CyDが選択的に生成されることを明らかにした。この合成法により、著者らはグラムスケールで $\delta$ -CyDを合成し、さらにホウ素クラスター化合物との錯形成定数を決定した。今後、 $\delta$ -CyDの科学が進展されることに伴い、将来的にはそれを応用した分析技術の開発が期待される。

Wuらは、CyDの鏡像異性体、つまり、L-グルコースによって構成される $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CyD(LCyDとする)を初めて合成した<sup>3)</sup>。NMR測定による錯形成定数の決定の結果、キラルな有機化合物であるフェンコンの(+)体と(-)体に対し、LCyDはCyDと完全に逆転したキラル選択性を示すことが判明した。このように、LCyDは従来のCyDでは実現できないキラル認識を可能にすることから、分析化学研究にも今後大きなインパクトを与え得るものである。

このような新しい分子認識素子を、新規な分析試薬や分離技術の材料として利用することだけでなく、その包接錯形成における溶液内平衡の精密な定量的評価を行うことも、分析化学としては今後興味深い研究になると言える。

- 1) L. Szenté, J. Szemán : *Anal. Chem.*, **85**, 8024 (2013).
- 2) K. H. Hansen, A. Erichsen, D. Larsen, S. R. Beeren : *J. Am. Chem. Soc.*, **147**, 13851 (2025).
- 3) Y. Wu, S. Aslani, H. Han, C. Tang, G. Wu, X. Li, H. Wu, C. L. Stern, Q.-H. Guo, Y. Qiu, A. X.-Y. Chen, Y. Jiao, R. Zhang, A. H. G. David, D. W. Armstrong, J. F. Stoddart : *Nat. Synth.*, **3**, 698 (2024).

[埼玉大学 鈴木 陽太]

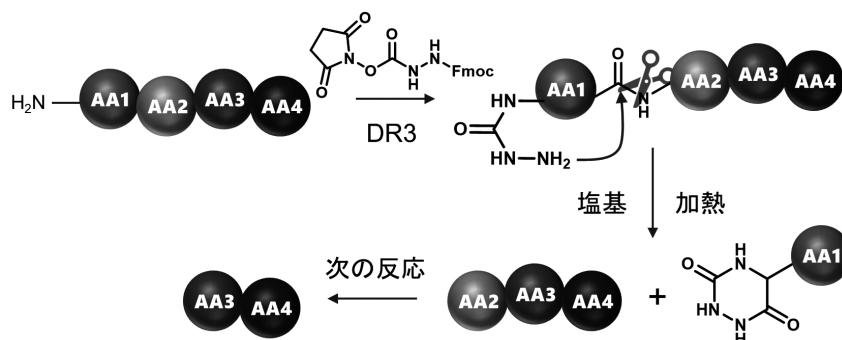


図1 DR3によるペプチドN末端分解反応の機構図