

アカデミックプログラム [A講演] | 16. 天然物化学・ケミカルバイオロジー：口頭A講演

2025年3月26日(水) 15:55 ~ 17:15 会場 [A]A404(第3学舎 1号館 [4階] A404)

## [[A]A404-1vn] 16. 天然物化学・ケミカルバイオロジー

座長：栗澤 尚瑛、武居 俊樹

## ◆ 日本語

15:55 ~ 16:05

[[A]A404-1vn-01]

渡名喜島産海洋シアノバクテリア由来新規リポペプチドの単離および構造決定

○渡邊 夏海<sup>1</sup>、岩崎 有紘<sup>1</sup> (1. 中央大学)

## ◆ 日本語

16:05 ~ 16:15

[[A]A404-1vn-02]

竹富島産海洋シアノバクテリア由来新規スタチン含有ペプチドの単離及び構造

○山路 悠馬<sup>1</sup>、岩崎 有紘<sup>1</sup> (1. 中央大学)

## ◆ 日本語

16:15 ~ 16:25

[[A]A404-1vn-03]

可逆なイミン結合に基づく $\beta$ -ヘアピンペプチドのフォールディング○本田 陽紀<sup>1</sup>、中間 貴寛<sup>1</sup>、藤田 誠<sup>1,2,3</sup> (1. 東大院工、2. 東大国際高等研、3. 分子研)

## ◆ 日本語

16:25 ~ 16:35

[[A]A404-1vn-04]

翻訳後還元およびアミノ基転移反応による翻訳ペプチドへの $\beta$ -アミノ- $\alpha$ ケトアミドの導入○河島 凜太郎<sup>1</sup>、後藤 佑樹<sup>1</sup> (1. 京都大学)

16:35 ~ 16:45

休憩

## ◆ 日本語

16:45 ~ 16:55

[[A]A404-1vn-05]

O-結合型糖鎖を有するタンパク質NICOLの化学合成と構造解析

○長濱 健太<sup>1</sup>、伊藤 駿<sup>3</sup>、武居 俊樹<sup>1</sup>、高尾 敏文<sup>1</sup>、浄住 大慈<sup>1,2</sup>、北條 裕信<sup>1</sup> (1. 大阪大学、2. 基礎生物学研究所、3. 中村学園大学)

## ◆ 日本語

16:55 ~ 17:05

[[A]A404-1vn-06]

糖尿病網膜症に関連するO-GlcNAc化4E-BP1の化学合成と機能解析

○渡邊 太貴<sup>1</sup>、末武 勲<sup>2</sup>、北條 裕信<sup>1</sup> (1. 国立大学法人大阪大学、2. 中村学園大学)

## ◆ 日本語

17:05 ~ 17:15

[[A]A404-1vn-07]

電子伝達能評価を指向したD-フェレドキシンの化学合成

○川本 菜月<sup>1</sup>、武居 俊樹<sup>1</sup>、北條 裕信<sup>1</sup> (1. 大阪大学)

---

## 渡名喜島産海洋シアノバクテリア由来新規リポペプチドの単離および構造決定

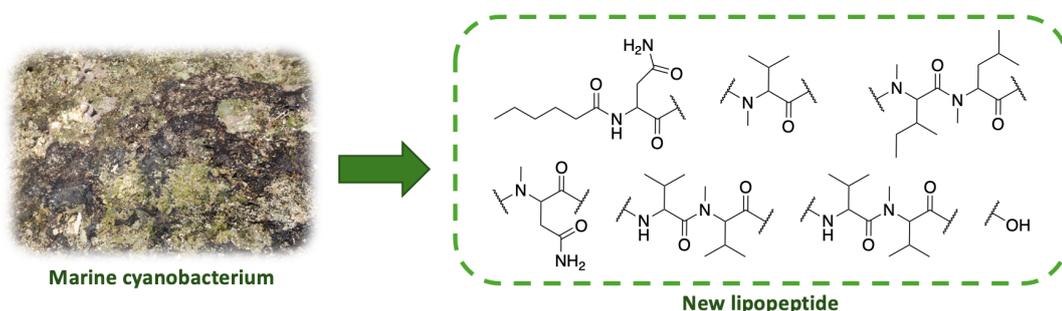
(中大理工) ○渡邊 夏海・岩崎 有紘

Isolation and structure determination of a new lipopeptide from a marine cyanobacterium collected at Tonaki island (*Chuo University*) ○Natsumi Watanabe, Arihiro Iwasaki

Some kinds of marine cyanobacteria are known to have a high capacity to produce secondary metabolites. Therefore, they are promising resources for natural products discovery. Against this background, we have investigated ingredients of a marine cyanobacterium with the aim of discovering novel natural products with unique structures and biological activities. As a result, a novel lipopeptide was isolated. As this compound contains many *N*-methyl-amino acid moieties, many rotamers were observed, making analysis difficult. However, detailed analyses of several NMR spectra revealed that the compound is the novel lipopeptide consisting of nine amino acid residues, including asparagine and *N*-methyl-amino acid moieties, and a hexanoic acid part. Analysis of tandem mass spectra and partial hydrolysis are currently underway to determine the sequence of partial structures.

**Keywords :** *Marine natural products, Cyanobacteria, Peptide*

ある種の海洋シアノバクテリアは二次代謝産物生産能が高いことが知られていることから、天然物探索研究の対象生物として有望である。そこで私は、特異な構造や生物活性を有する新規天然物の発見を目的として、海洋シアノバクテリアを対象に新規天然物の探索研究を行ってきた。その結果、新規リポペプチドを単離した。本化合物は *N*-メチル化されたアミノ酸を多く含むことから、ロータマーが多く観測され、解析は困難であった。しかし詳細な NMR スペクトルの解析により、本化合物がアスパラギンや複数の *N*-メチル化されたアミノ酸を含む、9つのアミノ酸残基とヘキサノ酸からなるリポペプチドであると明らかにした。現在はシーケンスを決定するべく、タンデム質量スペクトルの解析や部分加水分解の検討を行っている。



## 竹富島産海洋シアノバクテリア由来新規スタチン含有ペプチドの単離および構造

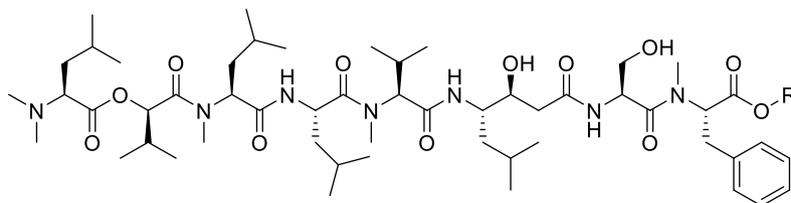
(中大理工) ○山路 悠馬・岩崎 有紘

Isolation and structure of new statin-containing peptides from a marine cyanobacterium collected at Taketomi Island (*Chuo University*) ○Yuma Yamaji, Arihiro Iwasaki

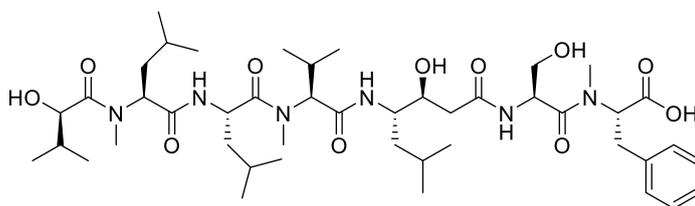
We have investigated secondary metabolites of a marine cyanobacterium collected at Taketomi Island, Okinawa. As a result, we isolated a new linear peptide, abastatin A (**1**), consisting of seven amino acid and one hydroxy acid residues. The absolute configuration of **1** was determined by detailed analysis of NMR spectra and acid hydrolysis followed by chiral HPLC analysis. Furthermore, we also isolated two new analogs of **1**, abastatins B (**2**) and C (**3**), from other fractions. Their absolute configurations were determined by derivatization reactions. Abastatins contain a statin residue ((3*S*,4*S*)-4-amino-3-hydroxy-6-methylheptanoic acid), suggesting that they inhibit the activity of protease, cathepsin.

*Keywords* : Marine natural products; cyanobacteria; statin

沖縄県竹富島で採集した海洋シアノバクテリアに含まれる二次代謝産物の探索を行った。その結果、8残基のアミノ酸からなる新規鎖状ペプチドである、abastatin A (**1**) を単離した。Abastatin A (**1**) の絶対立体配置は NMR スペクトルの詳細な解析と酸加水分解物に対するキラルカラム HPLC 分析により決定した。加えて、周辺画分から **1** の類縁体である abastatin B (**2**) および C (**3**) を単離し、誘導反応によりそれぞれの絶対立体配置を決定した。Abastatin 類はスタチン残基 ((3*S*,4*S*)-4-アミノ-3-ヒドロキシ-6-メチルヘプタン酸) をもつため、プロテアーゼの一種であるカテプシンに対する阻害活性が期待される。



Abastatin A (**1**) : R = H  
Abastatin B (**2**) : R = Me



Abastatin C (**3**)

## 可逆なイミン結合に基づく $\beta$ -ヘアピンペプチドのフォールディング

(東大院工<sup>1</sup>・東大国際高等研<sup>2</sup>・分子研<sup>3</sup>) ○本田 陽紀<sup>1</sup>・中間 貴寛<sup>1</sup>・藤田 誠<sup>1,2,3</sup>  
 Folding of  $\beta$ -hairpin peptides based on dynamic imine bonds (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, The University of Tokyo, <sup>2</sup>UTIAS, The University of Tokyo, <sup>3</sup>Institute for Molecular Science)  
 ○Harunori Honda,<sup>1</sup> Takahiro Nakama,<sup>1</sup> Makoto Fujita<sup>1,2,3</sup>

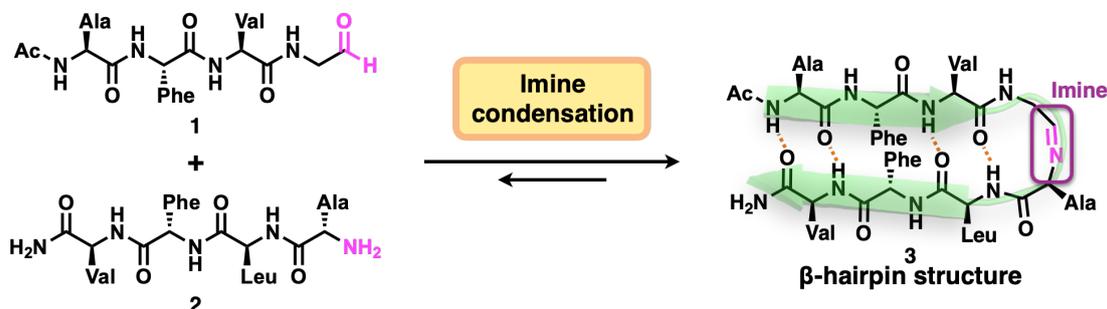
Our laboratory has previously shown that the folding and assembly of short peptides by dynamic metal coordination bonding allow for the construction of a wide variety of high-order peptide structures<sup>1)</sup>. We expected that the dynamic covalent imine bonding, due to its similarity to peptide bonds, could be used to construct structures closer to native proteins.

We here present the synthesis of  $\beta$ -hairpin peptides using dynamic imine bonding. The  $\beta$ -hairpin structures were designed to form a turn center with (*Z*)-imine, resulting from the condensation between a formyl peptide and an amino group of the second short peptide. When peptides **1** and **2** were mixed in acetonitrile, intermolecular imine condensate **3** was obtained as a single conformation. <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY/ROESY NMR and circular dichroism (CD) spectroscopy confirmed the selective formation of the  $\beta$ -hairpin structure as designed.

**Keywords** : Peptide;  $\beta$ -hairpin; Imine bond; Dynamic covalent chemistry; Self-assembly

当研究室では、動的な金属配位結合を活用して短鎖ペプチドの集合と折りたたみを誘起し、多様な高次構造の構築を示してきた<sup>1)</sup>。本研究では、配位結合の代わりにイミンの動的共有結合を用いることで、そのペプチド結合との構造的な類似性から、天然のタンパク質の構造を模倣できるのではないかと考えた。

本発表では、可逆なイミン結合を用いた  $\beta$ -ヘアピン構造の構築について議論する。C末端をホルミル基で修飾したペプチドを合成し、これと短鎖ペプチドのアミノ基のイミン縮合を行うことで、(*Z*)-イミンを中心にターンをなす  $\beta$ -ヘアピンの構築を目指した。ペプチド**1**と**2**をアセトニトリル中で混合すると、単一のコンフォメーションをとった分子間イミン縮合体**3**が得られた(**Fig. 1**)。<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY/ROESY NMRと円偏光二色性(CD)測定により、ペプチド**3**は設計した  $\beta$ -ヘアピン構造であることが分かった。



**Fig. 1** Synthesis of  $\beta$ -hairpin structures by imine bond formation from short peptide fragments.

1) Sawada, T.; Fujita, M. *Chem* **2020**, *6*, 1861–1876.

## 翻訳後還元およびアミノ基転移反応による翻訳ペプチドへのβ-アミノ-α-ケトアミドの導入

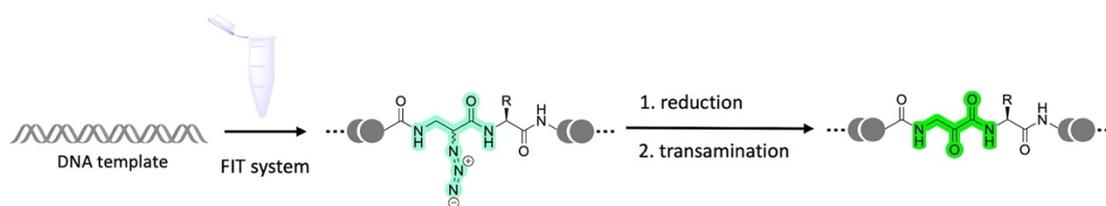
(京大院理<sup>1</sup>) ○河島 凜太郎<sup>1</sup>・後藤 佑樹<sup>1</sup>

Installation of β-amino-α-ketoamide into translated peptides by post-translational reduction and transamination (<sup>1</sup>*Graduate School of Science, Kyoto University*) ○Rintaro Kawashima<sup>1</sup>, Yuki Goto<sup>1</sup>

Recently, it was discovered that peptide-based natural products containing the β-amino-α-ketoamide structure were produced by post-translational modification in cyanobacteria. This structure represents a promising drug candidate because it forms a reversible covalent bond with serine and cysteine proteases, thereby inhibiting their activity. However, the substrate specificity of the enzyme hampers the synthesis of a variety of the β-amino-α-ketoamide-containing peptides. Here we report a method for the *in vitro* ribosomal synthesis of these peptides. Ribosomal peptide synthesis is hindered by unwanted side reactions induced by the electrophilicity of the ketone group, reducing the efficiency of peptide synthesis. To overcome this challenge, we introduced β-amino-α-ketoamide structures into translated peptides using a two-step reaction involving reduction and transamination.

*Keywords* : Peptide; *In vitro*; Post translational modification; ketoamide

近年、β-アミノ-α-ケトアミド構造を持つペプチド天然物がシアノバクテリアの翻訳後修飾酵素によって生産されることが発見された<sup>1)</sup>。この構造は、セリン・システインプロテアーゼと可逆的な共有結合を形成し、その活性を阻害するので有望な薬剤候補として注目されている。しかし、酵素の基質特異性により多様なβ-アミノ-α-ケトアミド含有ペプチドの合成は未だ実現されていない。そこで本研究では、ペプチド配列に依存しない *in vitro* 合成方法の確立を目指した。試験管内のリボソームによる直接合成では、ケトン基の高い求電子性が原因で副反応を生じやすいといった課題がある。この問題を克服するために、リボソーム翻訳後に還元反応とトランスアミノ化反応を組み合わせた2段階の手法を用いた結果、翻訳ペプチドにβ-アミノ-α-ケトアミド構造を高収率で導入することに成功した。



1) Morinaka, Brandon I., Edgars Lakis, Marjan Verest, Maximilian J. Helf, Thibault Scalvenzi, Anna L. Vagstad, James Sims, Shinichi Sunagawa, Muriel Gugger, and Jörn Piel. 2018. "Natural Noncanonical Protein Splicing Yields Products with Diverse β-Amino Acid Residues." *Science (New York, N.Y.)* 359 (6377): 779–82.

## O-結合型糖鎖を有するタンパク質 NICOL の化学合成と構造解析

(大阪大学<sup>1</sup>・基礎生物学研究所<sup>2</sup>・中村学園大学<sup>3</sup>) ○長濱 健太<sup>1</sup>・伊藤駿<sup>3</sup>・武居俊樹<sup>1</sup>・高尾 敏文<sup>1</sup>・淨住大慈<sup>1,2</sup>・北條裕信<sup>1</sup>

Chemical synthesis and structural analysis of NICOL with *O*-glycosylation (<sup>1</sup>*Osaka University*, <sup>2</sup>*National Institute for Basic Biology*, <sup>3</sup>*Nakamura Gakuen University*) ○Kenta Nagahama,<sup>1</sup> Shun Ito,<sup>3</sup> Toshiki Takei,<sup>1</sup> Toshifumi Takao,<sup>1</sup> Daiji Kiyozumi,<sup>1,2</sup> Hironobu Hojo<sup>1</sup>

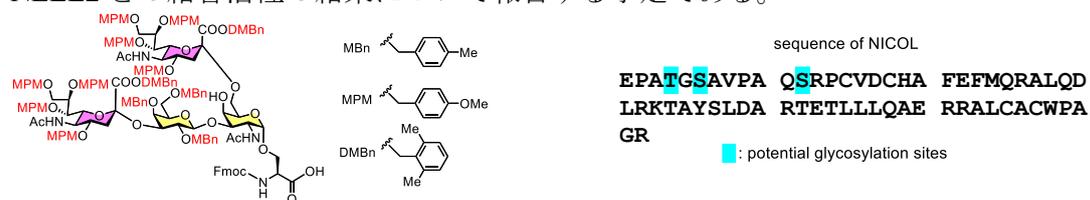
NICOL (NELL2-interacting cofactor for lumicrine signaling), a protein secreted by the testis, forms a complex with NELL2 (neural epidermal growth factor-like like Protein 2), and regulates the sperm maturation process<sup>1),2)</sup>. We found that NICOL has a disialyl-T glycosylation. However, the structure of the complex and the site and function of glycosylation remain unknown.

In this study, we synthesized NICOL bearing disialyl-T using glycoamino acid derivative protected by substituted-benzyl groups<sup>3),4)</sup> that can be deprotected by TFA. Furthermore, we quantitatively analyzed the binding affinity of the synthesized NICOL to NELL2 and investigated the effect of glycosylation on its binding. The detail of the synthesis and the result of the binding affinity will be reported.

**Keywords** : glycoprotein; solid-phase peptide synthesis; disialyl-T; glycosylation

精巣で分泌されるタンパク質の NICOL (NELL2-interacting cofactor for lumicrine signaling) は、同じく精巣から分泌されるタンパク質 NELL2 (neural epidermal growth factor-like like Protein 2) と複合体を形成し、精子の成熟過程を制御している<sup>1),2)</sup>。加えて、NICOL が disialyl-T 修飾を受けることが明らかになった。しかし、複合体の高次構造および、糖鎖の修飾部位やその機能は不明である。

本研究では、TFA で脱保護が可能な置換型ベンジル基<sup>3),4)</sup>を用いて disialyl-T 糖アミノ酸誘導体を合成し、これを固相合成に使用することで disialyl-T 型糖鎖を有する NICOL を化学合成した。さらに、合成した NICOL を用いて NELL2 との結合活性を定量的に解析し、糖鎖修飾が結合活性に及ぼす影響を調べた。合成の詳細および NELL2 との結合活性の結果について報告する予定である。



- 1) D. Kiyozumi, K. Shimada, M. Chalick, C. Emori, M. Kodani, S. Oura, T. Noda, T. Endo, M. M. Matzuk, D. H. Wreschner, M. Ikawa, *Nat. Commun.* **2023**, *14*, 2354.
- 2) D. Kiyozumi, T. Noda, R. Yamaguchi, T. Tobita, T. Matsumura, K. Shimada, M. Kodani, T. Kohda, Y. Fujihara, M. Ozawa, Z. Yu, G. Miklossy, K. M. Bohren, M. Horie, M. Okabe, M. M. Matzuk, M. Ikawa, *Science* **2020**, *368*, 1132.
- 3) N. Takeda, T. Takei, Y. Asahina, H. Hojo, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 2593.
- 4) S. Ito, Y. Asahina, H. Hojo, *Tetrahedron* **2021**, *97*, 132423.

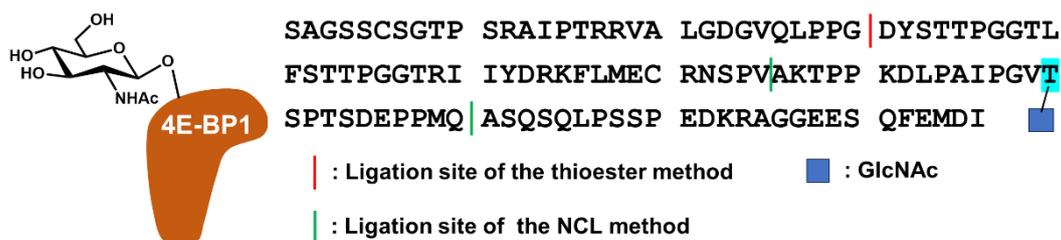
## 糖尿病網膜症に関連する *O*-GlcNAc 化 4E-BP1 の化学合成と機能解析

(阪大蛋白研<sup>1</sup>・中村学園大学<sup>2</sup>) ○渡邊 太貴<sup>1</sup>・武居 俊樹<sup>1</sup>・末武 勲<sup>2</sup>・北條 裕信<sup>1</sup>  
 Chemical synthesis and functional analysis of *O*-GlcNAcylated 4E-BP1 associated with diabetic retinopathy (<sup>1</sup>*Institute for Protein Research, Osaka University*, <sup>2</sup>*Nakamura Gakuen University*) ○Taiki Watanabe<sup>1</sup>, Toshiki Takei<sup>1</sup>, Isao Suetake<sup>2</sup>, Hironobu Hojo<sup>1</sup>

The glycoprotein VEGF is involved in the pathogenesis of diabetic retinopathy (DR), and the protein 4E-BP1 has been shown to affect VEGF expression. In addition, a previous study reported that *O*-linked N-acetylglucosamine (*O*-GlcNAc) modified 4E-BP1 promotes translation and in particular, the 80th Thr is a potential *O*-GlcNAcylation site of 4E-BP1<sup>1)</sup>. However, the structure of 4E-BP1 and its structural changes after modification have not yet been reported. Therefore, the aim of this study is to synthesize *O*-GlcNAcylated 4E-BP1 and to analyze the structure and function of 4E-BP1. We are currently synthesizing 4E-BP1 using solid-phase peptide synthesis and a thioesterification<sup>2)</sup> and ligation method (NCL, Thioester method) has been developed in our laboratory.

**Keywords** : Solid-Phase Peptide Synthesis; Ligation; Thioesterification; 4E-BP1; Glycoprotein

糖尿病網膜症(DR)の発症には糖蛋白質 VEGF が関わっており、4E-BP1 が VEGF の発現に影響を与えている。先行研究では *O*-結合型 *N*-アセチルグルコサミン(*O*-GlcNAc)修飾を受けた 4E-BP1 は VEGF の翻訳を促進することが見出されており、80番目の Thr が *O*-GlcNAc 化部位であることが示唆されている<sup>1)</sup>。しかし、4E-BP1 の構造や翻訳修飾後の構造変化は未だ報告されていない。そこで本研究では、この部位を *O*-GlcNAc 化した 4E-BP1 を合成し、4E-BP1 の構造と機能を解析することを目的とした。現在、4E-BP1 を固相合成と当研究室で開発したチオエステル化<sup>2)</sup>、ライゲーション法(NCL-脱硫反応法、チオエステル法)を用いて合成中である。



**Fig. 1. Sequence of *O*-GlcNAcylated 4E-BP1 (mouse) and the ligation sites.**

- 1) M. D. Dennis et al, *J. Biol. Chem.*, **2011**, 286, 34286-34297.
- 2) H. Hojo et al, *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48, 25-28.

## 電子伝達能評価を指向した D-フェレドキシンの化学合成

(大阪大学<sup>1</sup>) ○川本菜月<sup>1</sup>・武居俊樹<sup>1</sup>・北條裕信<sup>1</sup>

Chemical synthesis of D-ferredoxin for evaluation of electron transfer (<sup>1</sup>*Osaka University*)

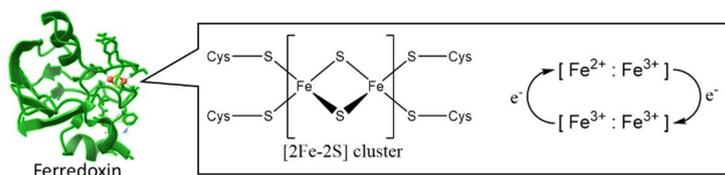
○Natsuki Kawamoto,<sup>1</sup> Toshiki Takei,<sup>1</sup> Hironobu Hojo<sup>1</sup>

Ferredoxin (Fd) is an iron-sulfur protein that functions in photosystem I and forms complexes with various Fd-dependent enzymes for electron transfer, but the details of their interactions are still unclear. Studies to date have proposed the following hypotheses regarding the interaction process: 1) Ionic interaction, 2) Making complex, 3) electron transfer by redox potential. However, it is difficult to prepare Fd with altered either surface charge or steric structure by recombinant DNA technology, and the hypotheses cannot be evaluated individually.

To address the hypothesis, we are trying to synthesize D-Fd by native chemical ligation (NCL) method. The details of the preparation of peptide segments and the ligation reaction will be presented.

*Keywords: ferredoxin; peptide synthesis; D-amino acid; native chemical ligation; Boc method*

フェレドキシン (Fd) は光化学系 I で機能する鉄-硫黄タンパク質であり、種々の Fd 依存酵素と複合体を形成して電子伝達を担う<sup>1)</sup>が、その相互作用の詳細については未だ不明瞭である。現在までの研究により、相互作用の過程に関して 1. 静電相互作用による接近、2. 立体相補性による相互作用、3. 酸化還元電位差による電子移動という仮説が提案されている。<sup>2),3)</sup>しかし、遺伝子組み換え技術では、表面電荷及び立体構造のいずれかを変化させた Fd を調製することは困難であり、上記の仮説を個別に評価できない。本研究ではこの仮説を検証するため、native chemical ligation (NCL) を用いて D-Fd の化学合成を試みている。本発表では、ペプチドセグメントの調製および縮合反応の詳細について報告する予定である。



1) J. Mondal, B. D. Bruce, *Photosynthetica*, **2018**, 56, 1, 279-293

2) T. Hase, G. Kurisu, *Nature Structural Biology*, **2001**, 8, 2, 117-121

3) Y. Sakakibara, T. Hase, *J. Biochem.*, **2012**, 151, 5, 483-492