

学 位 論 文 題 名

A Basic Study toward the General-Purpose Use
of Synthetic Polypeptides

(汎用使用を目的とした合成ポリペプチドの基礎研究)

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

科学はこれまで人間の生活を豊かにしてきた。しかしながら今世紀後半になり、急激な科学の進歩が環境破壊を引き起こしている。特に石油化学の進歩による数々の合成高分子の開発は、その生産と消費量の増大とともに廃棄物処理問題を発生させ、環境破壊や人体被害が懸念されるに至っている。したがってこれらの再利用対策とともに石油以外の資源による合成高分子の研究開発が急務である。そこで、これまでも利用されてきている天然高分子物質にならって合成ポリペプチドの基礎研究を行い、使用後はふたたび地球に還元され、汎用されても環境破壊の原因となることのない高分子物質の開発をめざした。

1章は本論文の序章とした。2章では、一度に大量合成が可能なNCA法により、これまでの極性溶媒にのみ溶解するポリペプチドに代え、水溶性のポリペプチドを合成し、イオンやpHによるコンフォメーションの影響について検討を行った。主に塩基性アミノ酸であるリジンを含むポリペプチドのコンフォメーション変化を取り上げた。リジンとアラニンの共重合体はpH4.5のクエン酸-水酸化ナトリウム溶媒中では α ヘリックス構造を持ち、pH6.23の塩化カリウム溶媒ではランダム構造となる。しかし、リン酸緩衝液ではpH6.9であってもヘリックス構造であった。そしてポリリジンでは同じ溶媒中において、全てがランダム構造であった。リジンとセリンの共重合体では、このペプチドを溶解しない溶媒もあり、また溶解してもヘリックス構造が取りにくく、このことはセリン残基側鎖による分子間水素結合によるものと推定される。

3章では側鎖の水酸基が水素結合を形成するセリン残基を取り上げ、セリンを含むポリペプチドの二次構造におけるセリン含量の影響を調べた。セリン含量が22%のポリペプチドはそれより多い、又は少ないセリン含量のペプチドと比較して、最も安定したヘリックス構造を示した。これはセリン側鎖の水酸基による2種類の水素結合の影響と考えられる。すなわちセリンは分子間水素結合とともに分子内水素結合を形成し、分子間水素結合より分子内水素結合が多い場合、この分子内水素結合はペプチド主鎖の水素結合によるヘリックス構造を補完して、ペプチドの二次構造に高い安定性をもたらすものと考えられる。

4章では天然蛋白質の蛇毒などで、小さな含量にもかかわらずその生理活性に大きく関与するトリプトファン残基に着目した。L-トリプトファンは反応性が低く、NCA法により

得られるポリペプチドはトリプトファン含量が小さい。そこでトリプトファンを多量に含有するポリペプチドの合成法を模索した。インドール核のイミノ基をホルミル化したホルミル-トリプトファンを用いることにより、目的とするペプチドの合成に成功した。これらの二次構造ではL-トリプトファン、ホルミル-トリプトファンの含有が少ないものほどヘリックスを形成しやすいという結果を得た。ヘリックス構造が形成されるトリプトファンおよびホルミル-トリプトファンの含量パーセントは7%以下と17%以下であった。

5章では合成ポリペプチド同士の相互作用についての検討を行った。トリプトファン-アラニン共重合体は酸性のアスパラギン酸-アラニンの共重合体と相互作用せず、プロリン-アラニン共重合体はこの酸性ペプチドと相互作用を示した。また、このプロリン-アラニン共重合体は塩基性のリジン-アラニン共重合体とも相互作用する。一方、アラニンをグリシンに換えたプロリン-グリシン共重合体はアスパラギン酸-アラニン共重合体と相互作用を示さなかった。

6章においては、プロリン含有ポリペプチドのDNAとの相互作用を検討した。ポリプロリンと、プロリン-アラニン共重合体のプロリン含量が多いポリペプチドはDNAと相互作用した。一方、プロリン-グリシン共重合体はプロリン含量の少ない場合でもDNAと相互作用し、この時プロリン残基はトランス位からシス位に変化する。ポリプロリンとDNAとの相互作用ではトランス-シス転位は起こらない。

以上、側鎖の異なる4種のアミノ酸を含む合成ポリペプチドはそれぞれ特徴ある物性を示したが、さらにこの基礎研究を進めることにより、各種の目的にかなった汎用高分子の開発が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 則 雄
副 査 教 授 坂 入 信 夫
副 査 助 教 授 野 水 基 義
副 査 助 教 授 平 沖 敏 文 (大学院工学研究科)
副 査 大 屋 正 尚 (群馬大学名誉教授)

学 位 論 文 題 名

A Basic Study toward the General-Purpose Use of Synthetic Polypeptides

(汎用使用を目的とした合成ポリペプチドの基礎研究)

科学の進歩は人間の生活を豊かにしてきたと言えるが、一方で急激な科学の進歩が環境破壊を引き起こしている側面も多い。環境破壊の多くの要因のうち特に石油化学の進歩による数々の合成高分子の開発は、その生産と消費量の増大とともに廃棄物処理問題を発生させ、環境破壊や人体被害が懸念されるに至っている。したがってこれらの再生対策とともに石油以外の資源による合成高分子の研究開発が急務である。本研究では、これまでも利用されてきた蛋白質類にならって合成ポリペプチドの基礎研究を行い、使用後はふたたび地球に還元され、汎用されても環境破壊の原因となることのない高分子物質開発の為の基礎研究を行った。

1 章は本論文の序章である。2 章では、一度に大量合成が可能な NCA 法により、これまでの有機溶媒にのみ溶解するポリペプチドに代え、水溶性のポリペプチドを合成し、イオンや pH によるコンフォメーションの影響について検討した。主に塩基性アミノ酸であるリジンを含むポリペプチドのコンフォメーション変化を取り上げた。リジンと中性アミノ酸のアラニンの共重合体は pH4.5 のクエン酸一水酸化ナトリウム溶液中では α ヘリックス構造をとり、pH6.2 の塩化カリウム溶液中ではランダム構造となる。しかし、リン酸緩衝液では pH6.9 であってもヘリックス構造であった。ポリリジンは同じ溶液中で、全ての pH 領域でランダム構造であった。一方リジンとセリンの共重合体は、ヘリックス構造が取りにくく、これはセリン残基側鎖による分子間水素結合によるものと推定された。

3 章では側鎖の水酸基が水素結合を形成するセリン残基を取り上げ、セリン

を含むポリペプチドの二次構造におけるセリン含量の影響を調べた。セリン含量が 22% のポリペプチドはそれより多い、又は少ないセリン含量のペプチドと比較して、最も安定したヘリックス構造を示した。これはセリン側鎖の水酸基による 2 種類の水素結合の影響と考えられる。すなわちセリンは分子間水素結合とともに分子内水素結合を形成し、分子間水素結合より分子内水素結合が多い場合、この分子内水素結合はペプチド主鎖の水素結合によるヘリックス構造を補完して、ペプチドの二次構造に高い安定性をもたらすものと考えられた。

4 章では天然蛋白質の蛇毒ポリペプチドなどで、小さな含量にもかかわらずその生理活性に大きく関与するトリプトファン残基に着目した。L-トリプトファンはポリペプチド合成時における反応性が低く、NCA 法により得られるポリペプチドはトリプトファン含量が小さいもののみという問題点がある。そこでトリプトファンを多量に含有するポリペプチドの合成法を模索し、インドール核のイミノ基をホルミル化したホルミル-トリプトファンを用いることにより、目的とするポリペプチドの合成に成功した。二次構造は L-トリプトファン、ホルミル-トリプトファンの含有が少ないものほどヘリックスを形成しやすいという結果を得た。また、ホルミル-トリプトファン含有ポリペプチドの方がヘリックス構造を形成しやすいという明確な結果が得られた。

5 章では合成ポリペプチド同士の相互作用についての検討を行った。トリプトファン-アラニン共重合体は酸性のアスパラギン酸-アラニンの共重合体と相互作用せず、一方プロリン-アラニン共重合体はこの酸性ペプチドと相互作用を示した。また、このプロリン-アラニン共重合体は塩基性のリジン-アラニン共重合体とも相互作用する。一方、アラニンをグリシンに換えたプロリン-グリシン共重合体はアスパラギン酸-アラニン共重合体と相互作用を示さなかった。わずかの構成単位の変化が大きく機能に影響する事が示された結果と言える。

6 章においては、プロリン含有ポリペプチドの DNA との相互作用を検討した。ポリプロリンと、プロリン-アラニン共重合体のプロリン含量が多いポリペプチドは DNA と相互作用した。一方、プロリン-グリシン共重合体はプロリン含量の少ない場合でも DNA と相互作用し、この時プロリン残基はトランス位からシス位に変化する。ポリプロリンと DNA との相互作用ではトランス-シス転位は起こらないので、この違いは大変興味深い。

以上、側鎖の異なる 4 種のアミノ酸を含む合成ポリペプチドはそれぞれ特徴ある構造や物性を示す事が明らかにされ汎用使用への道を拓いた。、さらにこのような基礎研究を進めることにより、各種の目的に適った汎用高分子の開発が期待される。

よって著者は、博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。