

学 位 論 文 題 名

Studies of Helical Conformations Formed
by Periodic Polypeptides(周期性ポリペプチドによって形成される
ヘリックスコンホメーションの研究)

学位論文内容の要旨

タンパク質は、地球環境の生命圏を形成する最も重要な物質の1つであり、生命の進化の過程のなかで生まれた天然の機能素子である。これらは多種多様な機能を持つことが知られ、一方で未だ機能未知のものも数多く存在する。個々のタンパク質は、そのアミノ酸配列に基づいて、機能を発現するのに必要な高次構造を形成する。このポリペプチド鎖のコンホメーションは、分子内および分子間相互作用による機能性構造体の形成という視点から、非常に興味深い研究対象である。多くの球状タンパク質では、 α -ヘリックスや β -シートが主要な規則構造と知られている。一方で、周期性ポリペプチド、すなわち特定のアミノ酸配列が規則的に繰り返したポリペプチドでは、これらとは異なるコンホメーションを形成することがある。例えばコラーゲンの3重らせん、フィブロインのシルクI構造、グラミシジンAの β^6 -ヘリックスなどである。近年のタンパク質データベースの拡充に伴い、多くの周期性ポリペプチドの存在が知られてきているが、興味深いことにこれらの多くは、その繰り返し配列単位の中に異常なアミノ酸を含んでいる。ここでの「異常な」アミノ酸とは、プロリン、グリシンなど、コンホメーション特性が、一般的なアミノ酸のそれとは異なるものを指す。D-アミノ酸や多くの非天然アミノ酸もこの意味で異常なアミノ酸とみることができる。本研究の興味の対象は、これらの異常なアミノ酸を含む周期性ポリペプチドが形成する規則構造である。これらのポリペプチドが良く知られた α -ヘリックスや β -シート等とは異なる規則構造を形成する場合、その天然における機能と構造の関連について、あるいは新規な機能性分子の設計の可能性としても、非常に興味深い。

本研究において、2つのタイプの異常なアミノ酸を含む周期性ポリペプチドについてコンホメーション解析を行った。1つはL-およびD-アミノ酸からなる非天然のポリペプチド、もう1つはRNAポリメラーゼIIにみられるプロリンリッチな周期性配列である。また、別の観点から、前者の研究は人工の機能性ポリペプチドの分子設計の試みであり、後者は天然に存在する酵素の機能未知のドメインについてのコンホメーション解析である。

2章では、L-アミノ酸とD-アミノ酸からなるポリペプチドが形成する β^6 -ヘリックスの側鎖原子団の空間配置に着目し、 π 電子系原子団の黒鉛型の積層構造形成による導電性ポリペプチドの理論的設計の試みを行った。分子力学計算に基づき、側鎖に9-アントリル基を有するアントリルアラニン(AntAla)を含む周期性ポリ(ジペプチド); poly(L-AntAla-D-Ala)、poly(L-AntAla-D-Nle)、およびポリ(トリペプチド); poly(L-AntAla-D-Ala-L-Ala)、poly(L-Ala-D-AntAla-L-Ala)、

poly(L-Ala-D-Ala-L-AntAla) について、構造最適化を行い、 β^6 -ヘリックスの安定性および側鎖原子団の空間配置を評価した。また、側鎖を 1-ピレニル基とした場合の、側鎖原子団の大きさの違いによる β^6 -ヘリックスの安定性の変化についても検討した。最後に、 β^6 -ヘリックスの安定化に向けたさらなる検討として、より大きな π 電子系原子団を側鎖に持つオバレニルアラニンを含むポリ(トリペプチド)についてコンホメーション解析を行った。その結果、これらのポリ(ジペプチド)およびポリ(トリペプチド)において、 β^6 -ヘリックスの軸に沿った π 電子系原子団の積層構造が形成され、それは側鎖芳香環のサイズが大きいくほど相対的に安定化されることが示された。本研究により、周期性ポリペプチド poly(L-Xaa-D-Yaa) および poly(L-Xaa-D-Yaa-L-Zaa) において、Xaa、Yaa、Zaa に適当なアミノ酸残基を設計することにより、 β^6 -ヘリックス軸に沿って側鎖芳香環が黒鉛型の積層構造を有する導電性ポリペプチドの構築が、理論的に可能なことが示された。

3 章では、真核生物の RNA ポリメラーゼ II の最大サブユニット C 末端ドメインに見られる、Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-Tyr の 7 残基のアミノ酸の規則的な繰り返し配列についてコンホメーション解析を行った。この繰り返し配列は、転写の際に重要な役割を果たしているらしいが、詳しい機能についてはよく分かっていない。本研究では合成モデルポリペプチドとして、繰り返し単位であるヘプタペプチド(H-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-Tyr-OH)、およびそれが規則的に繰り返したポリ(ヘプタペプチド) (poly(Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-Tyr)) を用い、円二色性(CD)スペクトルによるコンホメーション解析を行った。また分子力学計算に基づく構造最適化を、ヘプタペプチド(Ac-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-Tyr-NHMe)、およびポリ(ヘプタペプチド)に相当する Ac-(Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-Tyr)₁₆-NHMe について行った。CD スペクトルによる解析の結果、ヘプタペプチドはターン構造を形成することが示され、ポリ(ヘプタペプチド)ではそのターン構造を含んだスーパーコンホメーションの形成が示唆された。計算による構造最適化の結果、ヘプタペプチドでは 2 ヶ所の Pro 残基の部分でそれぞれターン構造を形成したコンホメーションが安定であることが示され、ポリ(ヘプタペプチド)では、そのターン構造を含む 1 周期あたり 14~23 残基のヘリックスが安定なコンホメーションとなった。本研究で示された長周期のヘリックス構造は、転写過程における、RNA ポリメラーゼ II の繰り返し配列と、転写因子や DNA との相互作用を考える上で、非常に興味深いモデルである。

以上、2 つのタイプの周期性ポリペプチドにおいて、 α -ヘリックスや β -シート等とは異なるヘリックス構造が安定であることが示された。他にも天然に数多く見いだされている周期性アミノ酸配列が、新規なヘリックス構造を形成するとすれば、その構造と機能の関連は興味深い研究対象である。さらには、それらの生命における起源および進化の観点からも、その機能の重要性は大変興味深い。また、環境や人間にやさしい人工機能性ポリペプチド分子の設計という目的においても、既存のタンパク質の構造にとらわれない、周期性ポリペプチドが形成し得る新規な 2 次構造についての、さらなる研究が望まれる。

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 岡 勝 仁 (大阪府立大学先端科学研究所)

学 位 論 文 題 名

Studies of Helical Conformations Formed by Periodic Polypeptides

(周期性ポリペプチドによって形成される
ヘリックスコンホメーションの研究)

タンパク質は、地球環境の生命圏を形成する最も重要な物質の1つであり、生命の進化の過程のなかで生まれた天然の機能素子である。個々のタンパク質は、そのアミノ酸配列に基づいて、機能を発現するのに必要な高次構造を形成する。多くの球状タンパク質では、 α -ヘリックスや β -シートが主要な規則構造と知られている。一方で、周期性ポリペプチド、すなわち特定のアミノ酸配列が規則的に繰り返したポリペプチドでは、これらとは異なるコンホメーションを形成することがある。近年のタンパク質データベースの拡充に伴い、多くの周期性ポリペプチドの存在が知られてきているが、興味深いことにこれらの多くは、その繰り返し配列単位の中に異常なアミノ酸を含んでいる。ここでの「異常な」アミノ酸とは、プロリン、グリシンなど、コンホメーション特性が、一般的なアミノ酸のそれとは異なるものを指す。D-アミノ酸や多くの非天然アミノ酸もこの意味で異常なアミノ酸とみることができる。本研究の興味の対象は、これらの異常なアミノ酸を含む周期性ポリペプチドが形成する規則構造である。

本研究において、2つのタイプの異常なアミノ酸を含む周期性ポリペプチドについてコンホメーション解析を行った。1つは L-および D-アミノ酸からなる非天然のポリペプチド、もう1つは RNA ポリメラーゼ II にみられるプロリンリッチな周期性配列である。また、別の観点から、前者の研究は人工の機能性ポリペプチドの分子設計の試みであり、後者は天然に存在する酵素の機能未知のドメインについてのコンホメーション解析である。

2章では、L-アミノ酸とD-アミノ酸からなるポリペプチドが形成する β^6 -ヘリックス

の側鎖原子団の空間配置に着目し、 π 電子系原子団の黒鉛型の積層構造形成による導電性ポリペプチドの理論的設計の試みを行った。分子力学計算に基づき、アントリルアラニンを含む周期性ポリペプチドについて、構造最適化を行い、 β^6 -ヘリックスの安定性および側鎖原子団の空間配置を評価した。また、側鎖を 1-ピレニル基とした場合の、側鎖原子団の大きさの違いによる β^6 -ヘリックスの安定性の変化についても検討した。最後に、より大きな π 電子系原子団を側鎖に持つオバレニルアラニンを含む周期性ポリペプチドについてコンホメーション解析を行った。その結果、これらの周期性ポリペプチドにおいて、 β^6 -ヘリックスの軸に沿った π 電子系原子団の積層構造が形成され、それは側鎖芳香環のサイズが大きいほど相対的に安定化されることが示された。本研究により、 β^6 -ヘリックス軸に沿って側鎖芳香環が黒鉛型の積層構造を有する導電性ポリペプチドの構築が、理論的に可能なことが示された。

3章では、真核生物の RNA ポリメラーゼ II の最大サブユニット C 末端ドメインに見られる、Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-Tyr の 7 残基のアミノ酸の規則的な繰り返し配列についてコンホメーション解析を行った。この繰り返し配列は、転写の際に重要な役割を果たしているらしいが、詳しい機能についてはよく分かっていない。本研究では合成モデルポリペプチドとして、繰り返し単位であるヘプタペプチド、およびそれが規則的に繰り返したポリ(ヘプタペプチド)を用い、円二色性(CD)スペクトルによるコンホメーション解析と分子力学計算に基づく構造最適化を行った。CD スペクトルによる解析の結果、ヘプタペプチドはターン構造を形成することが示され、ポリ(ヘプタペプチド)ではそのターン構造を含んだスーパーコンホメーションの形成が示唆された。計算による構造最適化の結果、ヘプタペプチドでは 2ヶ所の Pro 残基の部分でそれぞれターン構造を形成したコンホメーションが安定であることが示され、ポリ(ヘプタペプチド)では、そのターン構造を含む 1 周期あたり 14~23 残基のヘリックスが安定なコンホメーションとなった。本研究で示された長周期のヘリックス構造は、転写過程における、RNA ポリメラーゼ II の繰り返し配列と、転写因子や DNA との相互作用を考える上で、非常に興味深いモデルである。

以上、2つのタイプの周期性ポリペプチドにおいて、 α -ヘリックスや β -シート等とは異なるヘリックス構造が安定であることが示された。他にも天然に数多く見いだされている周期性アミノ酸配列が、新規なヘリックス構造を形成するとすれば、その構造と機能の関連は興味深い研究対象である。このように著者は、環境や人間にやさしい人工機能性ポリペプチド分子の設計において興味深い新知見を得た。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。