

| | |
|--------------|---|
| Title | ブタC5a-アナフィラトキシンの合成研究 |
| Author(s) | 茅野, 直良 |
| Citation | |
| Issue Date | |
| Text Version | ETD |
| URL | http://hdl.handle.net/11094/1807 |
| DOI | |
| rights | |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

| | |
|---------|--------------------------------------|
| 氏名・(本籍) | 茅 野 直 良 |
| 学位の種類 | 理 学 博 士 |
| 学位記番号 | 第 8033 号 |
| 学位授与の日付 | 昭 和 63 年 3 月 17 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 2 項該当 |
| 学位論文題目 | ブタ C 5 a-アナフィラトキシンの合成研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 芝 哲夫 |
| | (副査) 教 授 崎山 文夫 教 授 乾 利成 教 授 下西 康嗣 |

論 文 内 容 の 要 旨

最近のペプチド化学合成の進歩は目覚ましく、30アミノ酸残基程度の直鎖ペプチドは大きな困難もなく合成できるようになった。しかし、50アミノ酸残基を越える長鎖ペプチドの合成法や分子内に複数のジスルフィド結合を有するペプチドの合成法は確立されていないのが現状である。その様な背景のもと、本研究は74アミノ酸残基からなる長鎖ペプチドで分子内に3組のジスルフィド結合を合わせ持つブタC5a-アナフィラトキシンを合成の対象とし、複雑な構造を持つ長鎖ペプチドの合成法について検討を加えたものである。

ブタC5a-アナフィラトキシンは、生体防御機構に関与する補体系が活性化される際に血清中に存在する補体第5成分(C5)から遊離される塩基性ペプチドで、白血球遊走活性、リソゾーム酵素遊離活性など多彩な生物活性を有している。その一次構造式はGerardらとZimmermannらの2つのグループにより報告されているが、両構造式を比較すると65位アミノ酸残基が異なっており、Gerardらはそれをグルタミン(Gln)であるとし、Zimmermannらはグルタミン酸(Glu)であると推定している。本研究ではGerardらの推定構造式に従いブタC5a-アナフィラトキシンを合成し、天然物と比較することによりその一次構造を確定することを目的とした。

ブタC5a-アナフィラトキシンの合成を成功させるためにはまず高純度の直鎖ペプチドを構築することが重要である。そのためにベンジル系の保護基を使用した最大保護法により液相法でペプチド鎖を延長し無水フッ化水素(HF)で脱保護する組み合わせの合成法を採用し、合成中間体の純度を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で確実に検定して高純度であることを確認しながら実践したところ、一段階の精製操作のみでシステイン残基を保護したブタC5a-アナフィラトキシンが高純度で得られ

た。このペプチドを出発物質として使用し空気酸化法でジスルフィド結合形成反応を行い、天然型と同一の架橋様式を保持した高純度のブタC5a-アナフィラトキシンを合成することができた。

合成ペプチドと天然物を比較することにより天然ブタC5a-アナフィラトキシンの構造に検討を加え、合成〔Gln⁶⁵〕ペプチドが2種類のHPLC分析系で天然物の一致しなかった事実、GlnとGluの2種類の65位アミノ酸残基を含むヘキサペプチドと天然物のトリプシン消化物をHPLCで比較し、〔Glu⁶⁵〕ヘキサペプチドが天然物のフラグメントと一致したこと、更には天然物フラグメントの一次構造解析の結果により、2種類提出されていたブタC5a-アナフィラトキシンの構造式のうち〔Glu⁶⁵〕式が正しいことを初めて明らかにすることができた。

本研究で確立することができた複雑な構造を持つ長鎖ペプチドの合成法は、広く同種のペプチドの合成に有用であることは明らかであり、更に長鎖のペプチドや蛋白質などの合成を行う際に大きな示唆を与えるものと期待する。

論文の審査結果の要旨

最近のペプチド合成化学は生物学的により重要な、構造的により複雑な化合物の合成に向かって合成法の改良を重ねてきた。茅野君の本論文はこのような方向の一つの典型的な研究業績をまとめたものである。

生体の免疫機構に関与する補体が活性化される時に遊離されるアナフィラトキシンは炎症反応を引き起こし、白血球遊走活性やリソゾーム酵素遊離活性などを示す。その補体成分の一つC5の分解生成物C5a-アナフィラトキシンの合成が本研究の目的である。

ブタC5aアナフィラトキシンは74アミノ酸より成るペプチドで、その中の6システイン残基間に一定のS-S架橋構造を持つ化学構造が推定されていた。しかしZimmermannらとGerardらの2研究グループの解析結果は65位のアミノ酸残基が異なり、前者ではグルタミン、後者ではグルタミン酸であった。

茅野君は従来合成研究が行われていなかったこのアナフィラトキシンペプチドの合成を行うに当たって、同君の他の多くの研究経験を基づいて、液相法による最大保護法を合成方針として採用し、Zimmermann式のブタ〔Gln⁶⁵〕C5a-アナフィラトキシンの全合成を計画した。そのために全構造を7フラグメントに分けて合成、構築して、それらを順次縮合させて74アミノ酸残基を所定の順序に連結し、次にシステイン残基の保護基を選択的に脱離、酸化して21-47, 22-54, 34-55位間にそれぞれS-S結合を形成させ、最後に全保護基を除去して目的のブタ〔Gln⁶⁵〕C5a-アナフィラトキシンの全合成を完成させた。

得られた合成物は天然物と比較して両者に差異があることを認めた。次にGerardらの推定した〔Glu⁶⁵〕C5a-アナフィラトキシンのトリプシン消化物を合成し、それと天然物消化物を比較した結果、天然物は〔Glu⁶⁵〕の構造を持つことを始めて証明した。

以上のように茅野君の研究は、合成研究が未開発であったアナフィラトキシンペプチドに始めて挑戦し、その構造を合成的に確立するとともにその全合成法を確立したもので、博士論文として十分価値あるものと認められる。