



Title	Development of a Method for Protein Synthesis Using S-Alkyl Thioester of Partially Protected Peptide Segments
Author(s)	北條, 裕信
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3075268
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	北 條 裕 信
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 1 5 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Development of a Method for Protein Synthesis Using S-A1ky1 Thioester of Partially Protected Peptide Segments (部分保護ペプチドチオエステルを合成単位とするタンパク質化学合成法の開発)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 下西 康嗣 (副査) 教 授 崎山 文夫 教 授 楠本 正一 教 授 相本 三郎

論 文 内 容 の 要 旨

ペプチドの化学合成法の進歩により、複雑なペプチドを純度よく合成することが可能となってきた。しかし、ペプチド合成の手法で分子量 5000 を超す長鎖ペプチド・タンパク質を合成しようとする多くの困難が生じてくる。

そこで、分子量 10000 程度のタンパク質の迅速な合成を可能とするのみならず、タンパク質間の相互作用の解析、酵素機能の解析、さらに新しい性質や機能をもつ酵素の創製などの研究を推進する基盤を確立することを目指して、新たなタンパク質の合成法を開発すべく本研究を行った。

開発に当たり、液相と固相のペプチド合成法の長所を融合しうよう、タンパク質の合成戦略を立てた。すなわち、まず固相法で C 末端にチオエステル基を有するペプチドセグメントを合成し、これに必要な保護基を導入することにより部分保護ペプチドチオエステルを調製する。次にペプチド中のチオエステル基を銀イオン存在下で選択的に活性化し、対応する活性エステルへと変換しつつ、液相中でペプチドセグメントを順次縮合させ長鎖ペプチドを合成する方法を検討した。

c-Myb タンパク質 (142-193) アミド、HU 型 DNA 結合タンパク質 (90 残基) とその安定同位体で部位特異的に標識したもの、RNase 活性を持つ酵素であるバルナーゼ (110 残基) の同位体標識物および酵母の RNA ポリメラーゼ中に存在するバルナーゼ様ドメイン (112 残基) の合成を通して、本法に含まれる各反応の解析と、その問題点の解決を行った。その結果、以下の結論を得た。

1) 固相法を用いて効率よく部分保護ペプチドチオエステルを調製できる。2) ペプチドセグメント中のチオエステル基は銀イオンと速やかに反応し、対応する活性エステルへと変換される。3) 部分保護ペプチドセグメントの溶媒への溶解性は良好であり、長鎖ペプチドセグメント同士であっても反応性の著しい低下は見られず、縮合反応が効率よく進行する。4) 最少保護法での縮合反応であっても、反応系の塩基性を調節することにより、側鎖の官能基の反応性を低下させ、副反応を無視できる程度に抑えることができる。5) 30 残基程度の長鎖ペプチドを縮合させるため、セグメント縮合の際に逐次精製しなくても最終的に純度の高いタンパク質を得ることができる。6) 分子量 10000 前後のものであれば、最終目的物を酵素活性や生理活性等を指標とせずに単離できる。

以上、部分保護ペプチドチオエステルを合成単位とすることにより、固相法および液相法の長所を生かし、かつ弱点を克服した、新しいタンパク質合成法の開発に成功した。

論文審査の結果の要旨

蛋白質の構造や機能を解析する研究において、蛋白質あるいは変異蛋白質の合成は、現在では、遺伝子組み換え法が主流である。しかし、新しい性質や機能をもつ蛋白質の創製には、それだけでは充分でなく、alternativeな方法として、蛋白質の化学合成法の確立が望まれている。

北条君は、本研究において、新規なペプチド結合形成法であるチオエステル法を開発するとともに、本方法と、ペプチドの合成法である液相法と固相法の長所を巧みに組み合わせることによって、蛋白質の極めて効率の良い化学合成法を確立し、この方法を利用して、従来法では、極めて時間を要したところを、短時間に、かつ純粋な蛋白質を合成することに成功している。また、本方法を、がん原遺伝子産物である c-Myb 蛋白質をはじめとする幾つかの蛋白質について応用し、その有用性を実証している。本方法の確立によって、例えば、蛋白質の特定の位置に非天然アミノ酸残基を導入することによって、天然とは全く異なる蛋白質を創製することや蛋白質の特定のアミノ酸残基に安定同位体を導入することが容易となり、蛋白質の構造研究の進展が期待できる。

以上のように、本論文は、新規なペプチド合成法を開発して蛋白質の化学合成法に新しい道を開いたものであり、博士（理学）の学位論文として充分価値あるものと認める。