

Title	γ-グルタミルペプチドの研究
Author(s)	金澤, 彰
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29151
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	金 澤 彰 かな ざわ あきら
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1150 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	γ-グルタミルペプチドの研究
論文審査委員	(主査) 教 授 金 子 仁 郎 (副査) 教 授 坂 本 幸 哉 教 授 山 野 俊 雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

哺乳動物の脳にはタンパク構成アミノ酸が遊離に存在する以外に、多数の遊離アミノ化合物が存在し、近年γ-アミノ酪酸、ホモカルノシン、N-アセチル-L-アスパラギン酸が分離、同定された。しかし神経系にはなお未同定のアミノ化合物が多数存在し、その中には生理学的に重要な役割を担っている物質が存在する可能性もある。そこでまず現在未同定のアミノ化合物を同定する目的で一連の実験を行ない、8種のγ-グルタミルペプチドを分離あるいは精製し、同定した。

〔方法ならびに成績〕

1) 酸性アミノ化合物のイオン交換クロマトグラフィーによる精製

冬期死後1～3時間の牛脳、28.5 Kg、75頭分を屠畜場で得た。そのトリクロル酢酸抽出液から酸性アミノ化合物分画を分離し、全分画を2等分し、それぞれ5.3×137 cm, Amberlite IR-120×8 (200～400メッシュ)のカラム上でイオン交換クロマトグラフィーを行なった。樹脂は最初ピリジン-酢酸-水(1:40:3200)で平衡化し、展開液は同緩衝液を用い、段階的にピリジンの濃度を上昇させた。溶出されたアミノ化合物をニンヒドリン反応で検出し、同じ化合物をふくむ溶出液をあわせ13分画とした。

2) 各化合物の精製

各分画にふくまれるニンヒドリン陽性物質8種を化合物1～8と命名しそれぞれ2×30 cmのDowex 1×8 (100～200メッシュ)カラムを用い、上記と同様にイオン交換クロマトグラフィーを行ない精製した。さらに化合物3, 4, 7, 8は2×50 cmのDowex 50×2 (200～400メッシュ)カラムを用いて精製した。

以上の操作により化合物1～4は結晶として分離し、化合物5～8はニンヒドリン反応に関するか

ぎり単一の溶液に精製した。結晶した化合物の元素分析値，融点，旋光度は表 1 に記した。

表 1 結晶した化合物の元素分析値，融点，旋光度

化合物番号	元 素 分 析 値	融 点	旋 光 度
1	測定値 C43.13 H5.97 N10.35	191~2°	[α] _D ¹⁶ +6.6 (C, 1, 1NHCl)
	計算値 C43.48 H5.84 N10.14		
2	測定値 C43.00 H6.39 N15.28	191~2°	[α] _D ¹⁶ +11.0 (C, 1, 1NHCl)
	計算値 C42.90 H6.22 N15.64		
3	測定値 C40.92 H6.23 N13.96	188~8.5°	
	計算値 C41.17 H5.92 N13.72		
4	測定値 C44.29 H7.34	192~7°	
	計算値 C46.54 H6.95		

3) 各化合物の同定

各化合物を酸加水分解し，アミノ酸組成を決定，N末端アミノ酸をジニトロフェニル法で，C末端アミノ酸をカルボキシペプチダーゼを用いる方法で決定した。化合物 1, 2 は旋光度を測定し，立体配置を決定し，化合物 3, 4 のグルタミン酸残基の立体配置は酵素的に決定した。

以上の結果から推定化合物を合成し，沪紙クロマトグラフィー，高圧沪紙電気泳動上の性質，元素分析値，融点，旋光度を比較し，各化合物を表 2 に記したように同定した。

表 2 分離，精製化合物のアミノ酸分析

化合物番号	アミノ酸組成(組成比)*	N 末 端 アミノ酸*	C 末 端 アミノ酸*	推 定 構 造	合成により同定した構造
1	Glu, Glu (1 : 1)	Glu		Glu-Glu	γ -L-Glu-L-Glu
2	Glu, Glu(NH ₂)(1 : 1)	Glu		Glu-Glu (NH ₂)	γ -L-Glu-L-Glu(NH ₂)
3	Glu, Gly(1 : 1)	Glu		Glu-Gly	γ -L-Glu-Gly
4	Glu, β -AIB**(1 : 1)	Glu		Glu- β -AIB**	γ -L-Glu-L- β -AIB**
5	Glu, Ser(1 : 1)	Glu		Glu-Ser	γ -Glu-Ser
6	Glu, CySMe**, Gly(1:1:1)	Glu		Glu-CySMe**-Gly	MeSG**
7	Glu, Ala(1:1)	Glu		Glu-Ala	γ -Glu-Ala
8	Glu, Val(1 : 1)	Glu		Glu-Val	γ -Glu-Val

* アミノ酸組成，N末端およびC末端アミノ酸の決定法は本文参照

** 次の略号を使用した。 β -AIB= β -アミノイソ酪酸，CySMe=S-メチルシステイン，MeSG=S-メチルグルタチオン

〔総 括〕

28.5 Kg, 75頭分の牛脳をトリクロル酢酸で抽出し，イオン交換クロマトグラフィーを組み合わせてアミノ化合物を精製し，4種のペプチドを結晶として分離，4種をニンヒドリン反応に関しては単一な溶液に精製した。分離化合物は元素分析，アミノ酸組成の分析，旋光度測定から，それらの構造を推定し，分離物質が少量の場合は酵素的にグルタミン酸残基の立体配置を決定，推定化合物を合成し沪紙クロマトグラフィー，高圧沪紙電気泳動，赤外吸収スペクトル，旋光度，融点を比較し，それぞれ γ -L-グルタミルL-グルタミン酸， γ -L-グルタミル-L-グルタミン， γ -L-グルタミルグリシン， γ -L-グルタミル-L- β -アミノイソ酪酸と同定した。精製化合物はアミノ酸組成から構造を推定し，推定化合物を合成し，沪紙クロマトグラフィー，高圧沪紙電気泳動上の性質を比較し，それぞれ γ -グルタミルセリン，S-メチルグルタチオン， γ -グルタミルアラニン， γ -グルタミルバリンと同定した。

論文の審査結果の要旨

哺乳動物の脳には多数の遊離アミノ化合物が存在しており、近年 γ -アミノ酪酸、ホモカルノシン、N-アセチ-L-ルアスパラギン酸が分離、同定された。しかし神経系にはなお未同定のアミノ化合物が存在し、それらが生理学的に重要な役割を担っている可能性がある。著者はその点に着目し、まず現在未同定のアミノ化合物を同定する目的で実験を行なった。

その結果、ウシ脳より 8 種の γ -グルタミルペプチドを精製し、同定した。これらのペプチドのうち 3 種のは植物組織や人尿中にも存在するという報告があるが、他の 5 種は従来自然界に存在することが報告されていない。またこれら 8 種のペプチドの動物組織内存在を報告した研究もなかった。本研究は脳に存在する遊離アミノ化合物を系統的に検索しようとする試みとして注目すべきものであると考える。

従来、脳に存在する遊離アミノ化合物の生理学的意義はほとんど明らかにされていないが、本研究により一連の γ -グルタミルペプチドが脳内に発見されたことにより、脳内グルタミン酸残基の酵素的転移をはじめとして、今後中枢神経系における物質代謝、機能を解明する一つの手がかりを与えるものとする。