



Title	固相法による定分子量ポリ・トリペプチドの合成に関する基礎研究
Author(s)	岸田, 保雄
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30669
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	岸	田	保	雄
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	2469	号	
学位授与の日付	昭和47年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科有機化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	固相法による定分子量ポリ・トリペプチドの合成に関する 基礎研究			
論文審査委員	(主査) 教授	芝	哲夫	
	(副査) 教授	泉	美治	助教授 下西康嗣

論文内容の要旨

たんぱく質の機能と構造の関係を明らかにするために、これまで多くの研究が行われてきたが、天然のたんぱく質から得られる情報には複雑な要因がからみ合い、その解明にはかなりの困難を伴うのが常である。

そこで比較的簡単な構造をもったモデル物質を合成し、その物性を研究することによって、たんぱく質の構造解明の手がかりを得ようとする努力が多くの研究者によってなされてきた。

このような研究対象としては、当初一種類のアミノ酸のみからなるポリペプチドが主として用いられて用いられていたが、ペプチド合成法の進歩に伴い、一定配列の繰り返し単位を持った、いわゆる sequential polypeptide の合成も可能となり、より高度なモデル物質が利用しうようになってきた。

しかしながら、従来の重合法によれば、得られた物質の分子量は常にかかなりの巾に分布することが避けられず、その点、旧来のモデルは完全単分散である天然たんぱく質と根本的に異っていた。

本論文は旧来のモデル物質とは全く異なる単分散ポリペプチドの合成に関するもので、分子量分布のないポリペプチドがいかに旧来のモデルと異なり、天然のたんぱく質に近い挙動を示しうかを明らかにしようとするものである。

本研究においては、まず Merrifield 法に根本的な再検討を加え、いままであまり注目されなかった Merrifield 樹脂そのものの持つ問題点を明らかにし、固相法によるフラグメント縮合法の可否を検討した。

ついで、その方法を応用して、コラーゲンモデルと考えられる X-Pr-Gly の繰り返し単位をもつ各種ポリペプチドを合成し、生成物の性質を旧来のものと比較した。

特に本研究により得られた (Pro-Pro-Gly)_n, n=10, 15, 20 は溶液中でコラーゲンにみられるような、旋光度の温度変化を示し、非常に明確な転移点を持つことが明らかとなった。

この転移点を境として低温での分子量は高温側の3倍となっており、コラーゲンと同様に、低温ではトリプルヘリカル構造を、これらの合成物が持つことが判明した。

このうち、 $n=10$ のものは室温 10°C 附近で透析することにより単結晶が得られ、ここに初めて合成ポリペプチドの精密な高次構造をX線解析することが可能となった。

さらにX線解析を容易にするために、このポリマーにブロム原子を導入することにも成功し、同様の単結晶を得ることができた。

また、このようなモデルペプチドを用いれば、コラーゲン生合成の過程に働く重要な酵素の作用機作を明らかにする研究も可能となるので、その結果にもふれ、併せて考察を行った。

論文の審査結果の要旨

天然タンパク質の研究方法の一つにアミノ酸の重合によるポリアミノ酸をそのモデル物質として用いる方法が行われてきた。しかし、この旧来の重合法によれば、常にかなりの巾の分子量分布を持つ重合体しか得られず、単分散のポリペプチドを得ることは原理的に不可能であった。

また一方、一定のアミノ酸配列を持つ天然タンパク質そのものの合成法として、液相法による段階的延長法は溶解度その他の点で大きい制約を受けるのに対して、近年Merrifieldらによる固相合成法がしばしば採用されてきている。しかし固相法は各反応段階における収率がすべて定量的でない限り、アミノ酸残基数の増大に伴って、類似のアミノ酸配列を持つ多くの副生成物が副生し、目的とする生成物の精製に多大の困難を伴うという根本的な欠点を持っている。

本論文は対象としてタンパク質コラーゲンを取り上げ、実に巧みに固相法の長所を生かし、重合度一定の $(\text{X-Pro-Gly})_n$ の合成に成功し、コラーゲンの物性、構造、酵素反応に対する挙動などを調べるための画期的なモデルペプチドを調製したものである。

すなわちポリスチレン樹脂を用いて Pro-Pro-Gly のトリペプチド単位を固相法の原理に従ってくりかえし、フラグメント縮合し、 $n=2, 3, 4, 5, 10, 15, 20$ の $(\text{Pro-Pro-Gly})_n$ を合成した。これに関連してクロルメチル化ポリスチレン樹脂の調製ならびにアミノ酸の導入法について検討を加え、またアミノ酸のN-保護基には t -アミルオキシカルボニル (Aoc) 基を用い、樹脂からポリペプチドを脱離するためにフッ化水素法を用いるなど随所に新しい方法を採用した。

これらのポリペプチドの旋光度の温度変化より、3分子が会合したトリプルヘリックスの高次構造をとることをモデル物質として最初に証明した。さらに高重合度のポリペプチドの精製には透析法を用いることにより、 $(\text{Pro-Pro-Gly})_{10}$ や $\text{Pro}(\text{Br})\text{-Pro-Gly}(\text{Pro-Pro-Gly})_9$ の単結晶を得ることができた。後者はX線解析によるコラーゲンの分子構造解明に果す意義は大きい。

同様の方法により $(\text{Arg-Pro-Gly})_6$, $(\text{Glu-Pro-Gly})_5$, $\text{Arg-Gly}(\text{Leu-Pro-Gly})_5$, $^{14}\text{C-Pro}$ を含む $(\text{Pro-Pro-Gly})_5$ などの合成も行ない、これらのポリペプチドはプロトコラーゲンプロリン水酸化酵素の反応性を調べる試料として用いられ、酵素の水酸化反応の機構解明に役立っている。

以上の如く、分子量分布の全くない純粋なコラーゲンモデル物質が、斬新なアイディアに基づいて始めて合成されたことにより、タンパク質化学、高分子化学、酵素化学などに将来はかり知れない寄与を与えることが期待され、本論文は理学博士の学位論文として十分価値あると認められる。