



Title	核磁気共鳴による生理活性ペプチドの構造と相互作用の研究
Author(s)	樋口, 直樹
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33252">https://hdl.handle.net/11094/33252</a>
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">大阪大学の博士論文について</a>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)	樋 口 直 樹
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 4 7 7 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 12 月 15 日
学位授与の要件	理学研究科 高分子学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	核磁気共鳴による生理活性ペプチドの構造と相互作用の研究
論文審査委員	(主査) 教 授 京 極 好 正  教 授 角 戸 正 夫 教 授 中 村 晃

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は核磁気共鳴法 (以下 NMR と略す) を用いて各種生理活性ペプチドの溶液中での構造、物性と機能との関連を明らかにすることを目的とした。まず第 I 部では環状ペプチドトリオスチン A を取扱い、第 II 部では直鎖状ペプチド ACTH アナログや [Met<sup>5</sup>]-エンケファリンについて議論する。

トリオスチン A は環状オクタデペプチド構造を持つ抗生物質で、グラム陽性菌の DNA に結合して RNA の合成を阻害することが知られている。またこの分子はクロロホルム等の弱極性溶媒中では安定な 2 つのコンホマーが共存し、極性を上下するとどちらかのコンホマーのみが片寄って存在するようになる。第一章ではこのコンホマー平衡の原因を追求し、今まで言われてきたように分子の中央に存在するシスチン残基の S—S 結合のキラリティー変換によるのではなく、4 箇所ある N メチルペプチド結合のシストランス変換に起因することを明らかにした。これは S—S 結合の切れた試料では平衡がまだ存在するのに対し、N メチル基のはずれた試料では S—S 結合があるのに平衡が存在しない事実から結論される。第二章では最近開発された二次元 NMR の手法を用いてトリオスチン A の 2 つのコンホマーの溶液中での構造を明かにした。二次元 J 分解法及び二次元相関法は通常の一次元のスペクトルで複雑に重なり合ったスピン間の相互作用によって分裂したシグナルを分離して絵のように表示する。また二次元 NOE 法は分子中の至近のプロトン間の空間的な距離の情報を一挙に提供するため、トリオスチンのようなコンパクトな分子には非常に有用であり、これを適用した結果ほとんど一義的に分子モデルを組むことができた。それによると 2 つのコンホマーはその立体構造に大きな差異のあることが分った。第三章ではこの抗生物質の作用機作と構造との関連を調べるため各種核酸塩基または塩基対との相互作用を検討した。その結果トリオスチン A はプリン塩基とのみ強く

結合するがピリミジン塩基とは全く相互作用しない。さらに塩基対に対してはアデニンーウラシル対とは安定に結合するがグアニンーシトシン対とは結合しなくなる。これはポリGーポリC複合対よりもポリAーポリU複合体にトリオスチンAが結合し易いという事実に対比して興味ある。またコンホマーに2種類あることを述べたがそのうち片方のみしかプリン塩基と相互作用しない。この事実は第二章で定めた分子模型より説明される。

第Ⅱ部で直鎖状ペプチドを取扱った。第四章では弱いACTH活性を持つペプチドとそのアナログについてその構造と物性を議論した。これらの分子は溶液中では分子間で強い静電的相互作用をすることが分かり、その内あるものはさらに分子内で立体障害による安定なコンホマー平衡の存在することを明らかにした。直鎖状ペプチドでこのような立体障害の観測された例はあまり知られていない。第五章では直鎖状ペプチドホルモンであるメチオニンーエンケファリンの水溶液中での $^{15}\text{N}$ NMRを測定してシグナルの帰属とそのpH依存性を明らかにした。

## 論文の審査結果の要旨

樋口直樹君の論文においては生理活性ペプチドの溶液中の構造を核磁気共鳴法の新しい手法を用いて明らかにし、さらに機能との関連を解明している。とりあげた生理活性ペプチドとしては環状ペプチドとして抗生物質トリオスチンA、鎖状ペプチドとしてACTHの活性部位とされている5アミノ酸残基からなるペプチド、モルヒネ様機能を持つMet-エンケファリンである。その中で特にトリオスチンAに関する研究が詳細に行われている。

トリオスチンAは環状オクタデシペプチドで中央にS—S結合を持つ対称的な化学構造を持つ。この化合物は極性溶媒中で安定な形と無極性溶媒中で安定な2種のコンホマーとして存在することを見出した。両形の間の障壁の原因としてS—S結合のまわりの束縛回転、N—メチルペプチド結合のまわりの束縛回転が考えられるが、S—S結合が切れたトリオスチン誘導体、N—CH<sub>3</sub>を持たない誘導体のスペクトルを測定して後者がその要因であることを明らかにした。次にこの両形の溶液中の構造を2次元NMR法を適用して研究した。2DJ法と呼ばれる方法でスピンスピン結合定数を求め、2DNOE法で空間的に近接するプロトン同志の関係を求め、それらの結果を総合して両形それぞれの構造モデルを提出した。さらに本論文ではトリオスチンAと核酸モデルとの相互作用が調べられている。本抗生物質は2本鎖DNAと結合し、DNA依存RNA合成を阻害することが知られている。有機溶媒可溶の核酸塩基誘導体を合成し、トリオスチンAとの会合の様子を調べたところプリン塩基とのみ会合し、さらに興味あることは2形あるコンホマーのうち極性溶媒に安定なコンホマーとのみ会合することがわかった。このことは先の構造モデルと対比して都合よく説明される。このように分子間会合の選択性に立体構造が鋭敏に反映されている例は珍らしい。

以上本研究は生理活性ペプチドの溶液中の構造を原子レベルで詳細に記述することに成功し、かつその機能との関連を説明した点で理学博士の学位論文として十分価値あると認める。