

Title	合成オリゴペプチドを用いた金属チオレートタンパク質の化学的シミュレーション
Author(s)	中田, 道生
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/33356">http://hdl.handle.net/11094/33356</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	中 田 道 生
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5 9 7 0 号
学位授与の日付	昭 和 5 8 年 3 月 2 5 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	合成オリゴペプチドを用いた金属チオレートタンパク質の 化学的シミュレーション
論文審査委員	(主査) 教授 中村 晃 (副査) 教授 野桜 俊一 教授 新村 陽一

### 論 文 内 容 の 要 旨

金属タンパク質(金属酵素)は補欠分子族として金属イオンを含んでいる。これらの内で、システインチオレート基で金属イオンに配位しているタンパク質を「金属チオレートタンパク質」と呼ぶ。これらの金属結合部位(活性部位はCys-X-Y-Cys(X, Y=アミノ酸残基)のテトラペプチド単位が両端のCysのチオレート基で金属イオンにキレート配位した構造をとっている場合が多い)。この様な場合、Cys間にはさまれたアミノ酸残基XとYの側鎖による立体的規制の結果、キレートテトラペプチドは特異なコンホメーションをとり、1)キレート環の安定性、2)金属イオンのジオメトリーの決定、3)酵素活性の発現などに寄与していると考えられる。

本論文では、金属チオレートタンパク質の活性部位ペプチド単位Cys-X-Y-Cysに着目し、種々のCysを含むオリゴペプチドを合成し、それらのペプチドシーケンスと得られた錯体の性質の比較及び天然酵素の諸性質との比較した結果を述べる。本論文の目的は、合成オリゴペプチドを用いた金属チオレートタンパク質の「化学的シミュレーション」を通じて、生体高分子錯体(金属タンパク質又は金属酵素)の「機能発現素子」としての活性部位ペプチド単位的重要性を明らかにする事である。

第Ⅰ章は序論、第Ⅱ章はペプチド合成について述べた。

第Ⅲ章では、生体系には存在しないが、Pd(Ⅱ)/ペプチド錯体の構造をペプチドのコンホメーション解析により明らかにした。その時果、テトラペプチドZ-Cys-Ala-Ala-Cys-OMeはPd(Ⅱ)に対してキレート配位するが、Ala残基が他に置換されると側鎖の立体規則の為、キレート環は形成されない事がわかった。

第Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ章では、金属チオレートタンパク質の一種であるルブレドキシ(活性部位のFeイ

Feイオンを含む)の活性部位ペプチドZ-Cys-Thr-Val-Cys-OMeとZ-Cys-Pro-Leu-Cys-OMeのFe(II), Fe(III),を及びCo(II)の合成と,それらのスペクトルと電気化学的性質について述べた。その結果,テトラペプチド単位はルブレドキシンの活性部位環境の形成に不可欠である事がわかった。

第Ⅶ章では,金属チオレートタンパク質の活性部位環境の中で,ペプチド結合のNHと金属イオンに配位したCysのS原子間の水素結合が,タンパク質の酸化還元電位の決定に寄与している事を明らかにした。

金属酵素の活性部位は殆どの場合,タンパク質内の疎水的環境下に存在しタンパク質表面の親水性アミノ酸残基により水に可溶化されている。最終章では,この様な微視的不均一系を再現する為,Fe(II)/ペプチド錯体を非イオン性界面活性剤, Triton X-100,により水に可溶化した。その結果,Fe(II)/Z-Cys-Ppo-Leu-Cys-OMe錯体は,水溶液中で $-0.37\text{ V vs SCE}$ の酸化還元電位を示した。この値は天然ルブレドキシンの持つ値( $-0.30\text{ V vs SCE}$ )に極めて近い。さらに,この合成錯体は天然の酸化還元タンパク質であるフェレドキシン-NADP<sup>+</sup>レダクターゼとチトクロムc間の電子伝達活性も示した。

## 論文の審査結果の要旨

生体内電子伝達を行う金属蛋白のなかで,蛋白のシステイン残基のチオラート基が金属イオンと結合したものを金属チオラート蛋白質と呼び,自然界に広く分布している。これらのうちで,鉄イオンを含むものは「鉄・イオウ蛋白」と総称され,化学構造がかなり解明されたが,化学的機能と蛋白のアミノ酸配列の関係は明確ではなかった。

中田君は構造の比較的簡単な1ケの鉄イオンを持つルブレドキシンの一次構造にCys-X-Y-Cysで表される部分配列(X, Yは他のアミノ酸残基)がある事に注目し, X, YとしてLeu, Pro, Ala, Th, Thr, Valなどを持つZ-Cys-X-Y-Cys OMe型のテトラペプチドを系統的に合成し,これらとFe<sup>2+</sup>; Fe<sup>3+</sup>; Pd<sup>2+</sup>; Co<sup>2+</sup>などより錯体を合成した。

その結果, Fe<sup>3+</sup>を結合した錯体は,スペクトル特性が酸化型ルブレドキシンとよく似て居り,鉄イオンのまわりの化学構造が精度良く再現されている事がわかった。この錯体をミセル中に入れて水に可溶化し,酸化還元電位を測ると天然のルブレドキシンと殆ど一致し, NADPHからチトクロムcへの電子伝達での触媒として働く事実も,テトラペプチド錯体が小型の合成ルブレドキシンである事を示している。

中田君の研究によって金属チオラート蛋白質でのアミノ酸配列の化学的意義が示され,蛋白の機能の中で特に重要な電子伝達が,合成化学的にシミュレートできる事が明らかとなった。

以上のように,本論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。