The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | A New Cystine-Stabilized α-Helical Motif in Bioactive Peptides |
| Author(s) | 玉置, 春彦 |
| Citation | 大阪大学, 1992, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/38085 |
| 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

【 11 】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 玉置春彦（たまおきはるひこ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士　（理　学） |
| 学位記番号 | 第　10420　号 |
| 学位授与年月日 | 平成4年9月28日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当<br>理学研究科　無機及び物理化学専攻 |
| 学位論文名 | A New Cystine-Stabilized α-Helical Motif in Bioactive Peptides<br>（生理活性ペプチドに新しく見出されたヘリックスを安定化するジスルフィド結合様式） |
| 論文審査委員 | （主査）<br>教授　京極　好正<br>（副査）<br>教授　菅　宏　教授　久司　佳彦　助教授　小林　祐次 |

## 論文内容の要旨

蛋白質や生理活性ペプチドの立体構造に関する情報はそれらの活性発現の機構を理解し，蛋白質工学による蛋白質のデザインを行う上で重要な役割を担っている。近年，NMRによって比較的低分子量の蛋白質の構造解析が可能となってきた。筆者は，エンドセリン（血管内皮細胞由来の血管収縮活性を持つ21残基のペプチド，ET）とその関連ペプチドに関する一連の研究を行った。そして，この過程において，一本のペプチド鎖上にCys-X-X-X-Cysのように2つのCys残基が3つのアミノ酸残基で隔てられ，それらのCys残基がCys-X-Cysのように一つのアミノ酸残基で隔てられた一組のCys残基とジスルフィド結合で結ばれているとき、前者のペプチドセグメントで共通してαヘリックス構造をとることを見出した。

二次元NMR法（DQF-COSY，HOHAHAおよびNOESYスペクトル）による測定から，ET-1の各プロトンシグナルの帰属を行った。そして，核オーバーハウザー効果によるNOSEYスペクトルの交差ピークの強度が，対応するプロトン間距離の6乗に反比例することを利用して，プロトン間の距離情報を収集した。この情報をもとに計算機プログラムDADASを用いて立体構造を組み立てた結果，ET-1の構造は9残基目のLysから15残基目のCysまでに，αヘリックス構造を持つという特徴を示した。このαヘリックス構造の存在は，アミドプロトンの交換速度からも支持された。すなわち12，13，14，および15残基目のアミドプロトンの交換が非常に遅く，安定な水素結合の形成に関与していることが示された。エンドセリン程度の短鎖のペプチドが水溶液中で規則正しい二次構造を持つことは稀なことで，何分子かが会合して安定な構造をとることも考えられた。しかし，沈降平衡法を用いた超遠心分析から，ET-1は水溶液中でモノマーとして存在することが分かった。ET-1には上に述べたジスルフィド結合の様式がある。CDスペクトルのパターンは，ジスルフィド結合の還元により構造がランダムコイル状態に変化することを示し，αヘリックス構造の形成にはジスルフィド結合が必須であることが分かった。

同様のジスルフィド結合の様式は，ハチ毒，サソリ毒に含まれる一連の神経ペプチドにも見られる。NMR構造解析を行った結果，生理活性の異なるこれらポリペプチドにおいても共通してCys-X-X-X-Cysのセグメント部分でαヘリックス構造をとることが分かった。筆者は，このような特殊なジスルフィド結合の様式がαヘリックスを形成す

る構造モチーフとなり得るとの考えを提唱し，CSH モチーフ（the Cystine-Stabilized α-Helical Motif）と命名した。

一次構造データベース（SWISS-PROT，NBRF／PIR および PRF／SEQDB）を利用した系統的な検索から，この他に、Kaza 1型と Bowman-Birk 型のセリンプロテイナーゼインヒビター，抗菌作用を持つ昆虫デフェンシンに属するペプチドなどにこのモチーフが見出された。これらペプチドは，何れもこの CSH モチーフの配列に α ヘリックス構造を持つことが報告されている。

## 論文審査の結果の要旨

玉置君はエンドセリン等数種の生理活性ペプチドの溶液中の立体構造を NMR とデイスタンスジオメトリーを組み合せる方法を用いて決めた。その結果 Cys-X-X-X-Cys のように2つの Cys 残基が3つのアミノ酸残基で隔てられたセグメントが Cys-X-Cys 形のセグメントと2本のジスルフィド結合で結ばれると前者のセグメント部分が α-ヘリックスを形成することを見出した。この規則が一般的なことかデーター検索を行い，実験結果と対応させると，各種の2本のジスルフィド結合の組み合せのうち，上記のような組合せのみ α-ヘリックスを形成することを認め CSH モチーフと命名した。以上玉置君の研究は NMR が溶液中の蛋白質の立体構造を決めるのに有用であることを示しただけでなく，蛋白質の分子設計に有用なモチーフを見付けたことは博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。