

Title	リン酸化タンパク質の合成法に関する研究
Author(s)	長谷川, 功紀
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44030
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	はせがわ こう き 長谷川 功 紀
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 17305 号
学位授与年月日	平成14年9月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	リン酸化タンパク質の合成法に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 相本 三郎 (副査) 教授 楠本 正一 教授 村田 道雄

論 文 内 容 の 要 旨

チオエステル法によるリン酸化タンパク質の合成法の研究を開始するにあたり、まず標準的な方法に基づき、リン酸化ポリペプチドの合成を試みることにした。すなわち、 $[\text{Thr}(\text{PO}_3\text{H}_2)_2^{69,71}]\text{CRE}\cdot\text{BP1}(19\text{-}106)\text{-NH}_2$ を合成目標として選び、リン酸化ペプチドチオエステルを Boc 固相法で調製し、それを銀イオン存在下、他のペプチドセグメントと縮合させ、目的物を首尾よく合成できるか否かを明らかにすることとした。

その結果、リン酸化ペプチドチオエステルセグメントの合成収率は 2.6%と低いものであったが、得られたセグメントを用いてリン酸化タンパク質を合成したところ、チオエステル法の標準的縮合条件下で問題なくリン酸化タンパク質を合成することができた。

リン酸化ペプチドチオエステルが低収率でしか得られない原因を明らかにするため、合成の出発原料である樹脂の検討、最終脱保護の際に起こる副反応の解析をした。副反応の生成原因を考慮して、Fmoc 固相合成法によるリン酸化ペプチドチオエステルの合成を試みたところ、Boc 固相合成法に比較して高収率で目的物が得られることが判明した。

次に $[\text{Ser}(\text{PO}_3\text{H}_2)_2^{2,11}]\text{-p21Max}(1\text{-}101)$ を合成目標として取り上げ、Fmoc 固相合成法を用い対応するセグメントの調製を行ったところ収率は 14%であった。しかし、この調製法ではチオエステルに隣接するアミノ酸がエピメリ化すること、さらにC末端から3残基目までのアミノ酸が一部欠損したペプチドが生成することが判った。C末端側セグメントは大腸菌で発現させた Ala-p21Max(13-101)を用い、それをN末端アミノ酸の除去法を応用することにより側鎖アミノ基に選択的に Boc 基を導入し、合成用ブロックとすることに成功した。化学合成したリン酸化ペプチドチオエステルとC末端側合成ブロックをチオエステル法により縮合させ、目的物を得ることができた。

Fmoc 固相法を用いれば、リン酸化ペプチドチオエステルを Boc 固相法で合成するよりも高収率で得ることができたことが判明したが、C末端が光学活性アミノ酸の場合、固相上でペプチド鎖を伸長させている間にエピメリ化することが判明した。そこで、より穏和な条件下で除去できる Fmoc 型の保護基を検討し、エピメリ化率の軽減を計ることとした。Fmoc(2-F)基は塩基に対して感受性が高く、短時間でアミノ基から除去することが判明した。そこで Fmoc(2-F)基を用いてペプチド合成を行った。塩基処理に対して副反応を起こしやすいアミノ酸配列を含むペプチドや $[\text{Ser}(\text{PO}_3\text{H}_2)_2^{2,11}]\text{-p21Max}(1\text{-}13)\text{-SR}$ を合成し、Fmoc 基を用いた時の合成成績と比較した。その結果 Fmoc(2-F)基を用いることにより、塩基による副反応やC末端のアラニン残基のエピメリ化を抑制でき、合成収率も 20%へと向

上することが判明した

論文審査の結果の要旨

長谷川君は、生体の統御機構の解明に必要不可欠な物質であるリン酸化タンパク質の合成法に関する研究を行った。すなわち合成に用いる樹脂の調製法や新規なアミノ基の保護基を開発し、優れたリン酸化ペプチドチオエステルの調製法を開発した。さらに、発現タンパク質を合成用ブロックとする方法も開発し、それらを総合して、チオエステル法によるリン酸化タンパク質の合成法を開発した。したがって本論文は、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。