

Title	NMR-derived Conformations of Polyamines Interacting with ATP : Structural Basis for Weak Interaction of Major Cellular Constituents
Author(s)	丸吉, 京介
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46469
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

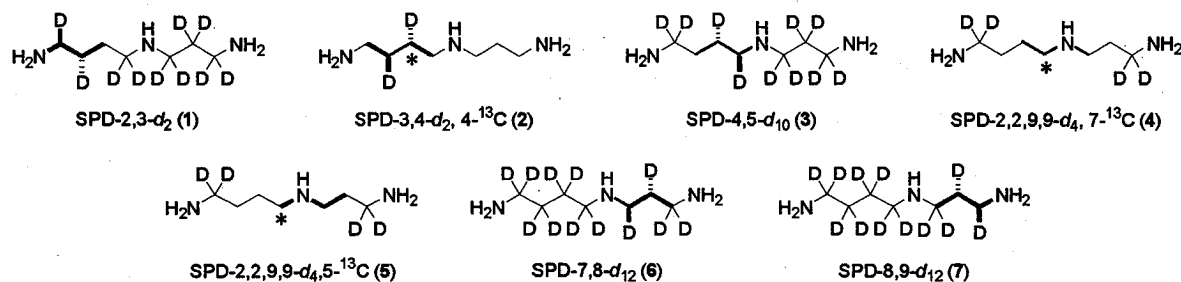
<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	丸吉京介
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 20023 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 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	NMR-derived Conformations of Polyamines Interacting with ATP : Structural Basis for Weak Interaction of Major Cellular Constituents (ポリアミン-ATP 複合体の NMR 構造解析—弱い生体分子間相互作用解明への新しい試み—)
論文審査委員	(主査) 教授 村田 道雄 (副査) 教授 深瀬 浩一 教授 稲葉 章 教授 中谷 和彦

論文内容の要旨

分子内に複数のアミノ基を有するポリアミンは、多種多様な生物に広く分布し、核酸やタンパク質などの酸性高分子と相互作用することによって細胞増殖をはじめ多岐にわたる生理活性を担っている。しかし、ポリアミンはこのような生理的重要性が認識されているにもかかわらず、その相互作用が弱いために、生体内における存在形態や生理活性発現機構に関する研究は大きく遅れている。そこで私は、NMR を用いた弱い相互作用の構造解析法を確立することに加えて、ポリアミンの生理作用を分子レベルで理解するために、生体内においても存在が予想されるスペルミジン(SPD)-ATP、およびスペルミン(SPM)-ATP 複合体に着目し、SPD、SPM の立体配座解析を行なった。



同位体標識体 SPD を合成し (上図)、得られたスピン結合定数から配座分布を見積もることで SPD が ATP と複合体を形成した時の立体配座変化を評価した。配座分布の計算には改良 Karplus 式と分子力場計算を用いた。SPD 三塩酸塩と SPD-ATP 複合体の二つのサンプルを比較すると、標識体 1、3、6、7 に関しては、ATP の添加によりスピン結合定数は顕著に減少した。またその変化の度合いは、ATP トリリン酸部分のネットチャージが負に大きくなる中性付近 (pH 7.3) で大きくなった。これに対して、標識体 2、4、5 では他の C-C 結合でみられたような顕著な変化は見られなかった。これらの結果より、SPD は ATP と相互作用するためにゴーシュ配座を増やすことでその構造を屈曲させており、その傾向は分子末端の方が、またプロパニレン側 (C7-C9) よりもブタニレン側 (C2-C5) の方がより曲がりやすいということを示している。得られた結果より、スペルミジンのような弱い相互作用を有する分子の時間的平均像をある程度解明することができた。同様の手法で SPM の配座解析も行なった。

Comp.	Obsrd J	SPD (3HCl)			SPD-ATP (pH 7)			Increment of <i>Gauche</i>
		3J (Hz)	<i>Anti</i>	<i>Gauche</i>	3J (Hz)	<i>Anti</i>	<i>Gauche</i>	
SPD-2,3- d_{10} (1)	$^3J_{H,H}$	9.7	82%	18%	8.1	65%	35%	17%
SPD-3,4- $d_2,4$ - ^{13}C (2)	$^3J_{H,H}$	10.6	78%	22%	10.1	74%	26%	4%
SPD-4,5- d_{10} (3)	$^3J_{H,H}$	9.5	79%	21%	8.5	69%	31%	10%
SPD-7- ^{13}C (4)	$^3J_{C,H}$	2.7	59%	41%	2.7	59%	41%	0%
SPD-5- ^{13}C (5)	$^3J_{C,H}$	2.5	66%	34%	2.6	62%	38%	4%
SPD-7,8- d_{12} (6)	$^3J_{H,H}$	9.9	85%	15%	8.8	74%	26%	11%
SPD-8,9- d_{12} (7)	$^3J_{H,H}$	9.8	84%	16%	8.2	68%	32%	16%

論文審査の結果の要旨

本論文は、生体内で重要な役割を担っている弱い相互作用の解明を目指した有機化学的研究について書かれており、生体分子の有する生理機能の分子基盤を解明することを目指している。生体分子として比較的高濃度で含まれるポリアミン類とアデノシン三リン酸 (ATP) に働く分子間相互作用を、ポリアミンの配座変化に着目して解析した。まず、代表的なポリアミンであり、生体成分としても重要なスペルミジン ($H_2N-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2$) について物理化学的検討を行っている。その結果、ATP との複合体形成の分子数比が一分子同士であること、スペルミジンと塩形成によって水和水の数が増加すること、大部分の水素を重水素置換しても ATP との親和性が変化しないことを明らかにしている。つづいて、立体化学選択的な化学反応によって重水素を導入したスペルミジンの同位体異性体 7 種を化学合成した。これらを用いて、分子配座に関与する 7 つの結合まわりの配座解析を行っている。まず、炭素-炭素間の回転配座の動的分布変化を求めるために、水素-水素間のスピ結合を利用するフレキシブルな系に適用可能な方法論を開発した。また、炭素-窒素の回転配座については、炭素-水素間のスピ結合を利用する方法を考案した。ATP との複合体形成時における配座変化を評価した結果、スペルミジンの水素-水素間において顕著なゴーシュ配座の増加が認められた。この配座変化は ATP 三リン酸部分の陰イオンとの相互作用に起因すると考えられた。また、これら配座解析法をスペルミン (スペルミジンの左端窒素にさらにアミノプロピル基が置換したもの) に適用した結果、スペルミジンとは異なり、スペルミンは三リン酸部分に加えて核酸塩基部分と相互作用していることが明らかとなり、この両者の生理機能の違いを示唆する証左を得ることに成功している。これらの研究は、今までほとんど解析されていなかった生体分子間の弱い相互作用を解明する端緒となりえるものであり、今後の研究方向を決める重要な成果であると考えられる。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認められる。