

|         |  |
|---------|--|
| 氏 名     | あか まつ み き<br>赤 松 美 紀   |
| 学位の種類   | 農 学 博 士  |
| 学位記番号   | 論 農 博 第 1606 号   |
| 学位授与の日付 | 平成 2 年 9 月 25 日  |
| 学位授与の要件 | 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当  |
| 学位論文題目  | Quantitative Analysis of Hydrophobicity of Oligopeptides Using Physicochemical Amino Acid Side Chain Parameters and Submolecular Structural Descriptors<br>(オリゴペプチドの疎水性と構造との相関関係に対する定量的解析) |
| 論文調査委員  | (主 査)<br>教 授 藤 田 稔 夫 教 授 駒 野 徹 教 授 松 野 隆 一   |

### 論 文 内 容 の 要 旨

最近、ペプチドおよびその類縁化合物は、新規な医薬に候補として注目を浴びようになってきた。医薬の疎水性は、生体系において、投与部位から活性発現のための受容体部位への移行とともに、受容体の疎水部位との相互作用の過程を支配する重要な性質である。また、ペプチドを構成するアミノ酸およびオリゴペプチド部分の疎水性は、タンパク質の折りたたみ構造やコンフォメーションなど、その生化学的機能を決定する三次元構造のみならず、生体膜へのとり込みにおける駆動力との関係においても極めて重要な役割を果す。

本論文は、近年有機化合物の疎水性パラメータとして標準化されつつある 1-オクタノール/水の二相系における分配係数の対数值  $\log P$  を、多くのオリゴペプチドについて実測し、構成アミノ酸側鎖の本来の置換基としての自由エネルギー関係物理化学的パラメータ、および、単位ペプチド結合ごとに、あるいは特異的な構造因子ごとに帰属させられる構造記述子を独立変数とした関数の型式で解析するとともに、解析式を基本とし、未測定オリゴペプチドの  $\log P$  およびコンフォメーションの予測を企てて行った研究成果をとりまとめたものである。

解離性側鎖をもつ場合、ペプチドは、生理的 pH 付近で必ずしも電荷が相殺されず、水相の pH の変化とともに  $\log P$  値は複雑な変化をすると予想されたので、本論文では、生理的 pH の近傍で双性イオンとして存在し、電荷が相殺されて、水相からオクタノール相へ分配され得るという条件をみたすため、側鎖に解離基をもたないオリゴペプチドが選択された。

第一章では、ジおよびトリペプチドについて検討が行われた。酸性およびアルカリ性条件下では、それぞれ対イオンとイオン対を形成し、見掛けの  $\log P$  は異常値を示す。種々の実験条件を検討した結果、物理化学的に信頼のおける、双性イオンとしての  $\log P$  値を精度よく測定できる方法を確立した。そして、種々の中性アミノ酸からなる 59 種のペプチドの pH 7 における  $\log P$  値の変化が、1) 構成アミノ酸の側鎖およびペプチド骨格自身の疎水性、2) 側鎖の立体的かさ高さがペプチド結合の溶媒和に及ぼす効果、3) 側鎖上に非解離性の官能基が存在するときその電子求引性効果と分子内水素結合性効果の、それぞれ

を表わす自由エネルギー関係パラメータの一次結合関数として、物理化学的および統計的に極めて有意に解析されることを明らかにした。

第二章では、N- および C-末端がそれぞれアセチル基およびアミド基で保護された53種のジおよびトリペプチドの  $\log P$  の変化が解析されている。解離の影響を無視できる保護ペプチド系において、双性イオン型で求められた解析式の正当であることが確認された。

第三章では、 $\beta$ -ターン構造のように分子内水素結合によるコンフォメーション効果の関与する高次ペプチドとして、テトラおよびペンタペプチドを含め、合計124個の化合物の解析が展開されている。ジおよびトリペプチドの  $\log P$  値の変化に関与するパラメータの他に、Chou と Fassman によって提出され、 $\beta$ -ターン部位の位置ごとに、各アミノ酸に対して帰属されている  $\beta$ -ターン指数より導かれた自由エネルギー関係パラメータを新たに導入することにより、第一章で求められた解析式と矛盾せず、物理化学的に正当に解釈され得る解析式を導くことに成功した。

第四章では、以上の解析式の応用として、 $\log P$  の求められていないオリゴペプチドの  $\log P$  を計算によって予測し、 $\log P$  の予測値と、分子の形状を表わす立体パラメータとの一次結合式が、ペプチドの苦味閾値の変化を良好に再現すること、さらに、 $\log P$  の変化に関与しているパラメータ項のうち、コンフォメーションに関する項を除いた成分の総和を計算すれば、実測  $\log P$  値との差部分の大きさから、コンフォメーションパラメータの未知のアミノ酸をふくむペプチドの二次構造が予測される可能性を示唆した。

#### 論文審査の結果の要旨

ペプチドの疎水性を、構成アミノ酸側鎖の疎水性を基準にして推定する方法に関しては、従来からも種々の研究が行われてきた。しかしながら、その多くは、保護アミノ酸あるいは類縁低分子化合物の相平衡定数、またはタンパク質の水和表面積から統計的に算出された指数にもとづくものであった。

本論文にとりまとめられた研究の評価される点の第1は、オリゴペプチド自体が溶質として存在する状態での疎水性に注目していることである。ついでペプチドの疎水性が構成アミノ酸側鎖の本来の疎水性およびその他の構造要素に依存することを明らかにした上で、予測の可能な経験式を確立したことである。

また、ペプチド自身が多価イオンとして存在しているため、従来は、簡単なジおよびトリペプチド類に関しても、正確でしかも物理化学的に妥当と認められる分配係数の測定法が確立されていなかった。とくに等電点付近で分配係数が極大値を示すことが期待されるにもかかわらず、従来は、明瞭な pH 依存性が認められていなかった。著者は、その原因を追求した結果、水相の pH の緩衝剤として用いるイオンが酸性およびアルカリ性領域で、それぞれ  $\text{NH}_3^+$  および  $\text{COO}^-$  とイオン対を形成して、オクタノール相に分配することを明らかにし、疎水性の低いイオン種のみを含み、イオン強度を一定としたリン酸ナトリウム系の緩衝液を水相として用いることによって、双性イオンの正確な分配係数の測定法を確立した。

さらに、 $\beta$ -ターン構造をとることによるコンフォメーション効果をパラメータ化することに成功し、より高次な構造である  $\alpha$ -ヘリックスなどを形成する高次ペプチドおよび生化学的に重要な役割を果している解離性側鎖を有する類縁ペプチドの  $\log P$  の予測に関して、同様な方法論の展開できる可能性を示唆した。

以上のように本論文は、オリゴペプチドを材料としながらも、生理活性を示す高次ペプチドおよびタンパク質の構造と機能との関係において、重要な因子である疎水性の解析法および予測法に、新しい成果を築いたものであり、生物化学、生物調節化学、ペプチド性医薬の分子設計に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成2年8月30日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、農学博士の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。