

【192】

氏 名	富 田 一 郎 とみ だ いち ろう
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 24 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 38 年 6 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	アミノ酸配列決定へのガスクロマトグラフ法の応用

(主 査)
論 文 調 査 委 員 教 授 中 島 稔 教 授 小 野 寺 幸 之 進 教 授 秦 忠 夫

論 文 内 容 の 要 旨

ペプチドの中には抗生物質とかホルモンなど多くの生理活性物質が含まれ、それらのアミノ酸配列順序を決定することは非常に重要な問題である。現在まで行なわれているアミノ酸配列決定法では、ペプチド鎖のC末端あるいはN末端より1個ずつしか決められないので全アミノ酸配列を決めるには長時間を要し、操作も煩雑であった。このためペプチド鎖の内部の配列順序をも一挙に決定できるような新しい方法の出現が強く要望されてきた。

本論文はガスクロマトグラフ法を応用してきわめて簡単にアミノ酸の配列を決定する方法について述べたものであって4章から成っている。F.Weygandはアミノ酸およびジペプチドのN-トリフルロアセチル(N-TFAと略記)エステルは熱に安定であり、昇華性のあることを発見した。本論文の著者はこの事実にもとづいて、ペプチドの加水分解物をこの形の誘導体に導き、それをガスクロマトグラフで分離確認して、もとのペプチドのアミノ酸配列を決定することが実際に可能か否かを証明するため種々の実験を行った。

まずゼラチンの部分的加水分解物のN-TFA化およびエステル化について吟味し、エステル化したのちトリフルロ酢酸メチルエステルでN-TFA化する方法が最もよい結果を与えることを知った。そこでこの方法を用い、ガスクロマトグラフ法を応用してジペプチドが最も多量に生成する加水分解条件を検討した。また加水分解物をN-TFAエステルにしたのち昇華法によりジペプチド部分を濃縮してからガスクロマトグラフに付することや、N→Oアシル転移を利用して、本法では分離困難なセリンやトレオニンを含むペプチドを他のものから分離することについて種々検討した。

このような予備実験ののち数種のオリゴペプチドを用い本法で実際にアミノ酸の配列を決定できることを証明した。たとえばカルボベンゾキシ-Phe-Gly-Ala-Val-OHを約10mgとり濃塩酸で部分的加水分解したのち、生成物をN-TFAエステルに導き、ガスマクロトグラフ法で分離すると3個のジペプチドのピークが得られ、標準物質の保持時間比との比較から、そのピークがGly-Ala, Ala-ValおよびPhe-Glyであ

ることがわかり、このことから直ちにものペプチドの構造を明らかにすることができた。さらに同様な実験をつぎに示す8種のオリゴペプチドについても行なった。

Ala-Gly-Gly-Leu;Ala-Gly-Ala-Gly;

Ala-Gly-Gly-Leu-Gly;Ala-Leu-Tyr-Leu-Val,

Gly-Ala-Gly-Tyr-Gly-Ala;Gly-Ala-Phe-Gly;

Ala-Phe-Pro-Leu;Ala-Gly-Gly-Leu-Gly-

Phe-Gly-Ala-Val

(Ala, アラニン; Gly, グリシン; Leu ロイシン; Tyr, チロシン;

Pro, プロリン; Phe, フェニルアラニン; Val; バリン

このうちチロシンを含むジペプチドのピークは得られなかったが、その他のものについては予想通りのピークが得られた。さらにこの方法を構造未決定のアマの種子から得られるペプチドに適用し、その構造について論じた。

一方分離困難なセリンやトレオニンのペプチドについてはつぎのような種々の実験を行なったが好結果は得られなかった。まずゼラチンの加水分解物から分離したセリン、トレオニン含有部分を N-TFA エステルにしたのち、塩化チオニルを作用させてオキサゾリン化合物としてガスクロマトグラフにかけたところ、新しいピークが得られた。しかしこれは予期に反して B-グロル-B-デソキン-N-TFA 化合物であることがわかり、これを含むジペプチドを合成してガスクロマトグラフ法による分離を試みたが、分解を伴うため配列決定に利用するには不適當であった。そこでさらにアセトイミノエーテルおよびベンツイミノエーテルを作用させてオキサゾリン化合物に導くことについて研究した。しかしこれらの化合物はガスクロマトグラフでの保持時間が長いため本法には不適當であることがわかったので、さらに N-TFA エステルにしたのちイソブテンを作用させて O-第三ブトキシ化合物を合成し、ガスクロマトグラフ法による分離を試みたが、反応収率がわるく実用化は困難であることがわかった。

論文審査の結果の要旨

近年ペプチド化学はその合成や構造決定の分野で著しい進歩を示し、数多くのすぐれた業績が発表された。とくにペプチドやタンパク質のアミノ酸配列決定はその空間構造や生理作用との関係を究明するためにきわめて重要な問題である。従来のペプチド鎖のアミノ酸基の配列順序を決める方法は(1)段階的分解方式と(2)指標および部分的加水分解法の2方法に大別できるが、いずれも煩雑で長時間を要する。

本論文の著者はガスクロマトグラフ法を応用して配列決定に必要な分子種のみ分離確認法とも名づけられるきわめて簡便な方法の基礎研究を行なった。すなわちゼラチンの部分的加水分解物をエステル化したのち N-TFA 化し、ガスクロマトグラフ法を用いてジペプチドが最も多量に生成する加水分解条件を調べたのち9種類の合成オリゴペプチドを用いて一定条件で加水分解し、生成物を N-TFA エステルに導いてガスクロマトグラフ法で分離し、それぞれのピークと標準物質との保持時間比の比較から容易にもとのペプチドのアミノ酸の配列を決定できることを実証したが、このことはまことに貴重な研究業績である。

一方セリンおよびトレオニン含有ジペプチドは N-TFA エステルの形ではガスクロマトグラフで十分鋭

い単一のピークを与えないので種々の反応を行ない、本法に適する誘導体に導こうと試みたが良い結果は得られなかった。

このようにガスクロマトグラフ法によるアミノ酸配列決定法はまだ完成されたものとはいえないが、本論文の著者によりその基礎は確立されたのであって本法はその使用目的によっては非常に大きい特色を有し、ペプチド化学やタンパク質化学の進歩に大きい貢献をなすといえよう。

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。