

氏 名 (本籍)	あん 安	ざい 齋	じゅん 順	いち 一
学 位 の 種 類	薬	学	博	士
学 位 記 番 号	薬 博 第	1 1 4	号	
学位授与年月日	昭和 5 6 年 3 月 2 5 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当			
研究科専門課程	東北大学大学院薬学研究科 (博士課程) 製薬化学専攻			

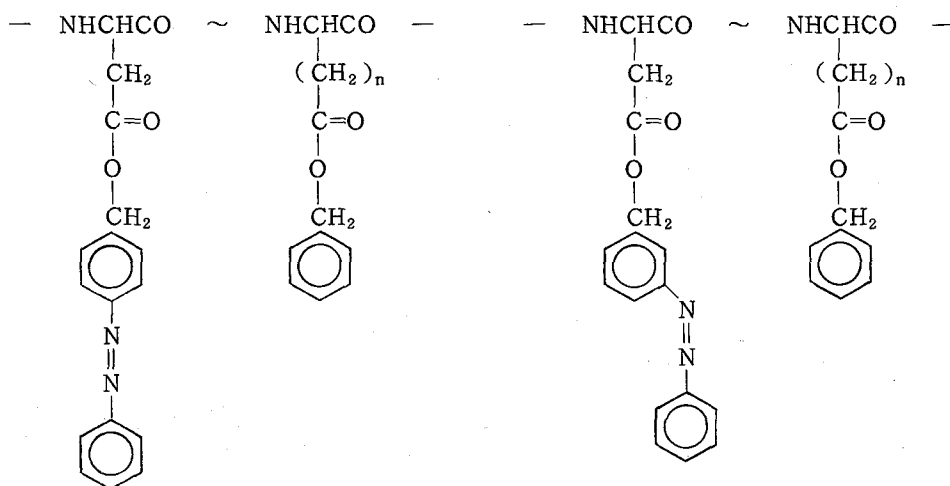
学位論文題目	Light - induced Conformational Changes of Polypeptides (光により誘起されるポリペプチドの コンフォメーション変化)
--------	--

(主 査)

論文審査委員	教授 長	哲 郎	教授	加 藤 鐵 三
			教授	橋 本 嘉 幸

論文内容要旨

側鎖に光受容基としてのアゾベンゼンを有する2種のアミノ酸（*m*- および *p*-フェニルアゾベンジル-L-アスパルテート）を含む4系列のポリペプチドを合成し、側鎖アゾ基のトランス→シス光異性化が、主鎖の二次構造に及ぼす影響について検討した。また、側鎖アゾ基のシス→トランス熱異性化反応の速度論的検討を、主鎖の構造変化との関連で行なった。



パラ共重合体
 $n = 1$: pa 系列
 $n = 2$: pg 系列

メタ共重合体
 $n = 1$: ma 系列
 $n = 2$: mg 系列

第1章では、生物界に存在する光応答系であるフィトクローム系およびロドプシン系に関し、その光応答機構が分子レベルで記述された。2つの系ともに、タンパク質と光異性化可能な光受容基とから構成されており、生理機能の発現には光受容基の構造変化に引き続いておこるタンパク質の構造変化が関与していることが示された。また、光応答性を賦与された機能性分子（系）—合成高分子、人工膜、シクロデキストリン、クラウンエーテル—においても、機能の光制御が可能なが示された。さらに、ポリ- β -ベンジル-L-アスパルテートが、他の多くのポリペプチドが右巻きヘリックスを形成するのと異なり、不安定な左巻きヘリックスを形成し、側鎖ベンゼン環上の置換基の位置と種類により、らせんの巻き向きを逆転することが示され、側鎖を光受容基で修飾することによる、光によるらせんの向きの制御の可能性が示唆された。

第2章では、 γ -ベンジル-L-グルタメートとの共重合体である pg および mg 系列に関して、構造が光照射前後の CD および NMR スペクトルより議論された。測定は CD および IR はジ

クロルエタン溶液、NMRは重クロロホルム溶液中で行なわれた。1種の単独重合体(m-PALA)を除き、検討された全てのポリペプチドの構造は右巻きヘリックスであった。m-PALAは、光照射により左巻きヘリックス($[\theta]_{222}=28,000$)から一部がランダムコイル($[\theta]_{222}=13,000$)に構造変化した。この構造変化は、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおける α -プロトンの化学シフトの変化(4.37 ppm \rightarrow 4.40 ppm, 4.90 ppm)からも支持された。さらに、光照射による粘度の増大からもランダムコイルの生成が示唆された。また、このヘリックス \rightarrow コイル転移は、側鎖アゾ基の異性化率が50%付近で急激におこることが示された。

共重合体のうちで、アゾ基含量の小さいポリペプチドでは、光照射による主鎖の構造変化は誘起されなかった。アゾ残基含量の大きい(89.3%, 85.9%)ポリペプチドでは、楕円率 $[\theta]_{222}$ の絶対値が光照射により増大した。これは、右巻きヘリックス含量の光照射による増大を示している。

また、側鎖アゾ基に基因する誘起CDバンドが観察された。mg系列ではアゾベンゼンの n, π^* 遷移領域にのみ誘起CDを示し、 π, π^* 遷移領域には示さなかった。誘起CDの符号は全て負であった。 $[\theta]$ の値が共重合体中のアゾ残基含量に依存しないことから、誘起CDの起源は側鎖—主鎖間相互作用と推定された。次に、pg系列は n, π^* 、 π, π^* 遷移の両吸収帯領域に負のCDバンドを示した。光照射により π, π^* 遷移領域のCDバンドは消滅し、 n, π^* 遷移領域では符号を逆転した。また、これら誘起CDの起源は、 n, π^* 遷移は側鎖—主鎖間、 π, π^* 遷移は側鎖—側鎖間相互作用に帰属された。

第3章では、 β -ベンジル-L-アスパルテートとの共重合体であるpaおよびma系列に関する結果が記述された。ma系列は正の $[\theta]_{222}$ 値を有し、全て左巻きヘリックスであった。アゾ残基含量の大きいポリペプチドでは、光照射により $[\theta]_{222}$ 値がわずかに減少し、ヘリックスの一部がランダムコイルに変化したことが示された。アゾ残基含量の小さいポリペプチドでは、構造変化はほとんど誘起されなかった。

pa系列も正の $[\theta]_{222}$ 値を有し、左巻きヘリックスであった。アゾ残基含量81%および59%のポリペプチドは、光照射により $[\theta]_{\text{max}}$ を、 $[\theta]_{215}=29,000$ から $[\theta]_{222}=-19,000$ へ、 $[\theta]_{222}=28,000$ から $[\theta]_{224}=-14,000$ へとそれぞれ変化させた。これらの $[\theta]$ 値の変化は、左巻きヘリックスから右巻きヘリックスへの構造変化に対応している。さらに、後者のポリペプチド(アゾ残基含量59%)の暗所におけるIRスペクトルは、エステルカルボニルを 1738 cm^{-1} に、アミドIを 1665 cm^{-1} に示した。光照射により、それぞれの吸収波数を 1744 cm^{-1} および 1655 cm^{-1} にシフトした。この変化は、上述のCDスペクトルの結果とよく一致する。また、左巻きから右巻きへの転移は側鎖の異性化率が50%付近で急激に誘起されることが示された。アゾ残基含量50%以下のポリペプチドでは光照射によるヘリックスの逆転はおこらなかった。

次に側鎖アゾ基による誘起CDに関し、ma系列では n, π^* 遷移領域に正のCDバンドが観察さ

れた。光照射による符号の逆転はおこらなかった。この誘起CDの起源は側鎖—主鎖間相互作用と推定された。

pa系列では、 n, π^* 遷移および π, π^* 遷移に起因するCDバンドが観察された。 π, π^* 遷移領域には、アゾ残基含量43%のポリペプチドでは正のCDバンドが、またアゾ残基含量59%、81%のポリペプチドでは、極大(340 nm)と極小(295 nm)を有する励起子カップリングによる特徴的なCDバンドが観察された。アゾ残基含量26%、7.4%のポリペプチドでは、この領域にCDバンドはみられなかった。 π, π^* 遷移領域のCDに関するこのような結果は、側鎖アゾ基同士の隣接の程度や配向が、誘起CDの発生に関係していることを示唆している。 n, π^* 遷移領域では、誘起CDの符号はアゾ基含量の増大に従って、ゼロ→正→負と変化した。光照射後は全て正の値を示した。また、これら誘起CDの起源は、 π, π^* 遷移は側鎖—側鎖間、 n, π^* 遷移は側鎖—主鎖間相互作用と考えられた。以上、2,3章で述べた構造変化は全て完全に可逆的過程である。

第4章では、側鎖アゾ基のシス→トランス熱異性化反応の速度論的検討がなされた。1,2-ジクロルエタン溶液中で、pgおよびmg系列の全てと、paおよびma系列のうちアゾ残基含量の小さいものは、一次反応速度式に従って異性化した。これらは光照射による主鎖の構造変化は、ほとんどおこらなかったポリペプチドである。主鎖の構造変化が誘起されているポリペプチドは、異性化の初期段階で一次反応速度式から逸脱する挙動を示した。ジメチルホルムアミド中では、これらのポリペプチドはランダムコイルで存在するために、全ての共重合体は一次反応速度式に従って異性化した。以上の実験結果より、ポリペプチド主鎖の構造変化が、側鎖の異性化過程に影響を与えていることは明白であるが、その詳細な機構については、さらに検討を要する。

第5章では、本研究で明らかになったポリペプチドの可逆的構造変化は、「光受容基の光異性化とそれに後続するポリペプチドの構造変化」という点において、生物界のフィトクローム系あるいはロドプシン系に匹敵するものと考えられることが、結論として記述された。

第6章では、今後の研究の展望に関して記述された。

審査結果の要旨

生物界に存在する光応答系の機構が分子レベルで研究される傾向にあるが、本論文はこの合成モデル系として、側鎖に光受容基としてのアゾベンゼンを有する合成ポリペプチドを用い、側鎖アゾ基のトランス→シス異性化が主鎖の二次構造に及ぼす影響および熱によりもとのトランスへ戻る速度論的検討を主として機器分析により行なったもので、6章から構成されている。

合成されたポリペプチドは側鎖にアゾベンゼンを有する *m*-および *p*-フェニルアゾベンジル-L-アスパルテートと、 γ -ベンジル-L-アスパルテートおよび γ -ベンジル-L-グルタマートとの4系列の共重合体 (*pa*, *pg*, *ma* および *mg* 系列) 22種であり、元素分析値からアゾ含量、比粘度から分子量 (重合度約 100) を求めた。これらのポリペプチドを 0.1wt%, 1,2-ジクロロエタン溶液とし、500W 高圧キセノンランプで照射した。

誘起円二色性はアゾベンゼンの n, π^* , π, π^* 遷移の両吸収帯の符号および絶対値、 $^1\text{H-NMR}$ における $\alpha\text{-CH}$ および $\beta\text{-CH}_2$ の値、IR におけるエステルカルボニルおよびアミド I の値の照射前後での変化を利用して定量的に考察された。*pg*, *mg* 系列の照射前の主鎖の二次構造は主に右巻ヘリックス、*ma*, *pa* 系列のそれは左巻ヘリックスであるが、光照射後、アゾ残基85%以上の前者では右巻ヘリックス構造が増大し、アゾ残基の多い *ma* 系列ではランダムコイルへ、アゾ残基50%以上の *pa* 系列では右巻ヘリックスへ変化した。そして多くの場合、側鎖アゾ基の異性化率50%近傍で主鎖の急激な転移が認められた。誘起 CD の結果から、すべての系列で側鎖-主鎖間相相互作用が確認されたが、*mg*, *ma* 系列では照射前でも側鎖-側鎖間相互作用は確認されなかった。

側鎖アゾ基のシス→トランス熱異性化反応は、1,2-ジクロロエタン中、照射による主鎖の構造変化が殆ど起らなかった系では一次反応速度式に従い、主鎖の構造変化が誘起された系では異性化の初期段階で一次反応速度式から逸脱する挙動が示された。ジメチルホルムアルデヒド中ではポリペプチドはランダムコイルで存在するために、すべて一次反応速度式に従って異性化した。詳細な機構は不明であるが、ポリペプチド主鎖の構造変化が側鎖の異性化過程に影響を与えている。またこれらの構造変化はすべて完全に可逆過程であった。

以上のように、アゾ基を有する合成ポリペプチド系における照射の効果が詳細に検討され、高分子化学の分野において多くの知見を得ると同時に、生物界における光応答系モデルとしての示唆を与えており、学位論文として十分な価値を有するものと認められる。