

薬学博士矢島治明君の「液相法によるウシのリボヌクレアーゼ

Aの全合成と結晶化に関する研究」に対する授賞審査要旨

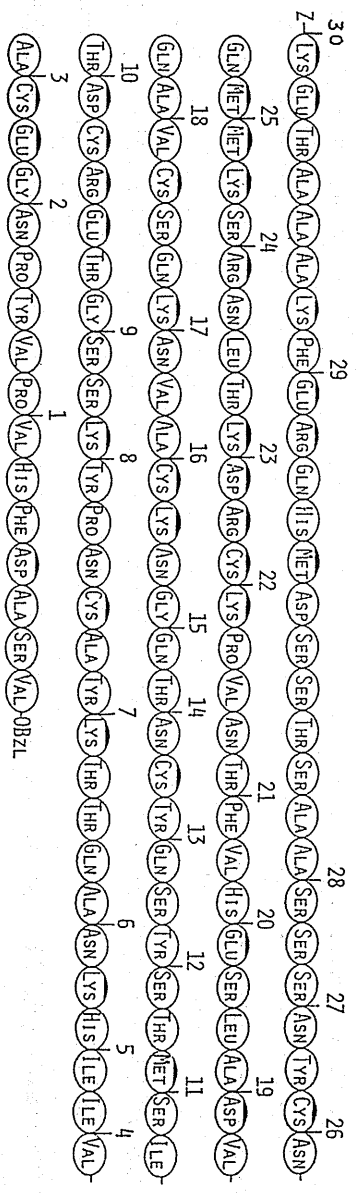
I リボヌクレアーゼAの合成研究

ペプチドホルモンについては一九五三年のオキシトシン (9-peptide) の合成を始めとし今日迄、多くのオリゴペプチドが合成されている。しかるに酵素蛋白に関しては純粋な標品の完全合成は未だ成功していない。

矢島君は二〇数年間に渉り生理活性ペプチドの合成研究を行い約一九〇篇にのぼる報文を発表するなど、多くの成果を挙げているが今回、一九六三年に W. H. Stein, S. Moore より酵素としては初めてアミノ酸配列の決定されたウシの臍リボヌクレアーゼA (24-peptide) を対象とし、液相法を活用する過程で独創的な工夫を生かしつつ全合成と合成標品の結晶化に成功した。アミノ酸一〇〇個以上から成るポリペプチドの完全合成は画期的な成果であり、純粋な酵素蛋白の合成としては世界で最初の例である。

矢島君の標品は酵母リボ核酸のほか、単分子環状ヌクレオチドも天然の酵素純品と同一の強さで分解し、アミノ酸分析、電気泳動による純度確認及び旋光度、紫外部吸収、ミハエリス恒数などの物理的測定値も天然品と一致する。この事は Stein, Moore のアミノ酸配列式が正しかった事を確認したものであり重要な意義を持っている。

一〇〇個以上のアミノ酸から構成される蛋白質の合成は、保護基の選択、反応成績体の溶解度、反応時のラセミ化



保護基 (○印)

Z Benzylcarboxyl	Z (OMe) p-Methoxybenzyl-oxycarbonyl	Bzl Benzyl	Boc tert-Butyloxycarbonyl	MBS p-Methoxybenzenesulfonyl
$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-O-CO-}$ Lys 側鎖の保護に利用 CF_3COOH に安定 $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ 又は $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ で除去	$\text{CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-O-CO-}$ α -アミノ 保護基に利用 縮合に先立ち $\text{CF}_3\text{CO-OH}$ で除去	Cln, Asp 側鎖の保護 CF_3COOH に安定 $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ 又は $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ で除去	$\text{CH}_3\text{-C}(\text{CH}_3)_2\text{-O-CO-}$ Z (OMe) 基と同様	$\text{CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_2\text{-}$ Arg 側鎖の保護 CF_3COOH に安定 $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ 又は $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ で除去
Z 除去法	Z 除去法	Met 側鎖の保護 チオールの還元で除去	Sulfoxide Cys 側鎖の保護	H で除去

区分ペプチド
 1, 2, …… 30 で示す。即ち 1 は 7 個, 2 は 5 個のアミノ酸から成るペプチドである。

図 1 30 個の区分ペプチドと全合成された保護基をつけたままのリボヌクレオゼ A

等多くの問題があり、従来の合成を目的とした報文も、その成績体の不十分な酵素活性が、正規のアミノ酸配列から成るポリペプチドに由来するか否かの検討がなされていない。

従ってアミノ酸の数については 39-peptide の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) が最も多く、矢島君はその約三倍のペプチド鎖を合成したことになる。

矢島君の本研究の成功の基本的な要因は比較的小さい反応性に富んだ区分ペプチドを先ず第一の合成中間体として選んだことにある。アミノ酸二個乃至二個から構成される区分ペプチド三〇個を合成し、それぞれ保護基を保持したまま図一に示した一本鎖の 124-peptide に導く。ついで脱保護基の反応と空酸化化による β -結合の後、結晶化に至る合成過程の大綱を図二に示した。合成に当っては多くの新反応を開発しているが、主なものとしては、(1) 図一に示した保護基の結合したポリペプチドから図二のように一挙に多種の保護基をはずすために、 $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{H}$ -*n*-cresol 系及び $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{H}$ -thioanisole- $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ 系を新たに考案し、これに見合った保護基 (図一) を選び或いは新しく開発したこと。(2) 側鎖をベンゼンル基で保護したグルタミン酸、アスパラギン酸を含むペプチド中間体の合成に新しく $\text{CCL}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{O}\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{NH}_2$ を開発して、従来の azide 縮合法を飛躍的に前進せしめたこと。(3) ペプチド合成の際にメチオニン、チステイン、チロジン等の側鎖に発生する副反応を発見して機構を明らかにし、その抑制法を開発したこと。(4) 合成の中間体及び最終段階におけるペプチドの精製に最も効果的なゲル濾過及びアフィニティクロマトグラフを選択せること、等が挙げられる。

これらの合成過程で新しく開発された数々の新反応、知見の累積は今後のポリペプチド鎖合成研究に貢献するとこ

表 1 矢島治明君の初めて合成したりボスクレアーゼ
以外の生理活性ペプチド類

世界で最初に合成したペプチド	発表年代
Adrenocorticotrophic Hormone	(ブ タ) 1976
略 号 ACTH	(サ メ) 1976
	(ウ シ) 1978
Melanocyte-Stimulating Hormone	(サ ル β-) 1968
略 号 MSH	(ヒ ト β-) 1969
	(サ メ α-) 1974
	(ブ タ β-) 1975
	(ウ シ β-) 1975
	(ラクダβ-) 1977
	(サ メ β-) 1977
Vasoactive Intestinal Polypeptide	(ニワトリ) 1979
Gastrin Releasing Peptide	1980
Motilin	1975
Glucagon	1977
Substance P	1973
Neurotensin	1975
β-Endorphin	1978
δ-Endorphin	1978
α, and γ-Endorphin	1978
Kyotorphin	1980
Granuliberin-R	1980
Mastoparan M	1981
Polistes Mastoparan	1980
Mastoparan X	1980

計 24 種

II その他の研究
ろが大きいきし、また多面的な刺激を与えるものと考ええる。

矢島君は一九五六年 K. Hofmann 教授の研究室に留学、ペプチド合成の研究を始めている。そして一九六〇年に ACTH の二三番目迄のペプチドを合成して、このホルモンの生理活性がこのペプチド部に存在する事を始めて明らかにしたことである。名を知られるようになった。帰国後、ACTH に関してはブタ、ウシ、サメのそれぞれの ACTH を全合成したのを始め、多くの生理活性ペプチドを合成して医学的研究分野にも寄与しているが、これらを表一に示した。

矢島君は以上の如く、コンビナド合成化学分野に於て多くの業績を挙げ、その手堅い手法は国際的にも高く評価されている。即ち海外からの招待講演も一九八一年秋まで計七回に及び、一九八〇年度 Forgerly International Scholarship (NIH) を受けて居る。

1' 牛豚の膵文田酸

[1] リボヌクレアーゼAの合成研究

1. Chemical Synthesis of Bovine Pancreatic Ribonuclease A. H. Yajima and N. Fujii, J. C. S. Chem. Comm., 1980, 115-116.
2. Total Synthesis of Bovine Pancreatic Ribonuclease A. Part 1. Synthesis of the Protected Pentadecapeptide Ester (Positions 110-124). N. Fujii and H. Yajima, J. C. S. Perkin I, 1981, 789-796.
3. Total Synthesis of Bovine Pancreatic RNase A. Part 2. Synthesis of the Protected Hexatriacontapeptide Ester (Positions 89-124). N. Fujii and H. Yajima, J. C. S. Perkin I, 1981, 797-803.
4. Total Synthesis of Bovine Pancreatic RNase A. Part 3. Synthesis of the Protected Hexapentapeptide Ester (Positions 69-124). N. Fujii and H. Yajima, J. C. S. Perkin I, 1981, 804-810.
5. Total Synthesis of Bovine Pancreatic RNase A. Part 4. Synthesis of the Protected Tetraoctapeptide Ester (Positions 41-124). N. Fujii and H. Yajima, J. C. S. Perkin I, 1981, 811-818.
6. Total Synthesis of Bovine Pancreatic RNase A. Part 5. Synthesis of the Protected S-Protein (Positions 21-124) and the Protected S-Peptide (Positions 1-20). N. Fujii and H. Yajima, J. C. S. Perkin I, 1981, 819-830.
7. Total Synthesis of Bovine Pancreatic RNase A. Part 6. Synthesis of RNase A with Full

- Enzymatic Activity. N. Fujii and H. Yajima, *J. C. S. Perkin I*, 1981, 831-841.
8. Studies on Peptides C. Chemical Synthesis of Crystalline Ribonuclease A. H. Yajima and N. Fujii, *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 600-602 (1981).
 9. Studies on Peptides CIII. Chemical Synthesis of a Crystalline Protein with the Full Enzymatic Activity of RNase A. H. Yajima and N. Fujii, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981 (in press).
- 〔II〕
1. ペプチド合成に関するその他の研究
 Studies on Peptides XVIII. Catalytic Hydrogenation of Met-containing Peptides. H. Yajima, K. Kawasaki, Y. Kinomura, T. Oshima, S. Kimoto and M. Okamoto, *Chem. Pharm. Bull. (Japan)*, 16, 1342 (1968). 他 37 篇
 2. 副腎皮質刺激ホルモンに関する研究
 a. The Synthesis of a Tricosapeptide Possessing Essentially the Full Biological Activity of Natural ACTH. K. Hofmann, H. Yajima, N. Yanahara, T. Y. Liu and S. Lande, *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 487 (1961). 他 16 篇
 b. Studies on Peptides LIX. Synthesis of the Nonatriacontapeptide corresponding to the Entire Amino Acid Sequence of Porcine Adrenocorticotropic Hormone. H. Yajima, K. Koyama, Y. Kiso, A. Tanaka and M. Nakamura, *Chem. Pharm. Bull. (Japan)*, 24, 492 (1976). 他 9 篇
 3. メラニン細胞刺激ホルモンに関する研究
 Studies on Peptides XXI. Synthesis of the Docosapeptide corresponding to the Entire Amino Acid Sequence of Human β -Melanocyte-Stimulating Hormone. H. Yajima, K. Kawasaki, H. Minami, H. Kawatani, N. Mizokami and Y. Okada, *Biochim. Biophys. Acta*, 175, 228 (1969).

他 35 篇

4. 消化管ペプチドに関する研究
Synthesis of the Docosapeptide corresponding to the Entire Amino Acid Sequence of Porcine Motilin. H. Yajima, Y. Kai and H. Kawatani, J. C. S. Chem. Commun., 1975, 159. 他 31 篇
5. 膵臓ペプチドに関する研究
Synthesis of the Basic Trypsin Inhibitor from Bovine Pancreas (Kunitz and Northrop) by Fragment Condensation on a Polymer Support. H. Yajima, Y. Kiso, Y. Okada and H. Watanabe, J. C. S. Chem. Commun., 1974, 106. 他 9 篇
6. 視床下部ペプチド及びビエーローペプチドに関する研究
Studies on Peptides XXXIV. Conventional Synthesis of the Undecapeptide Amide corresponding to the Entire Amino Acid Sequence of Bovine Substance P. H. Yajima and K. Kitagawa, Chem. Pharm. Bull. (Japan), 21, 682 (1973). 他 32 篇
7. 生理活性をもつ蛙皮ふペプチド合成に関する研究
Studies on Peptides LIIVI. Synthesis of Kassinin, a New Frog Skin Peptide. H. Yajima, T. Sasaki, H. Ogawa, N. Fujii, T. Segawa and Y. Nakata, Chem. Pharm. Bull. (Japan), 26, 1231 (1978). 他 3 篇
8. 生理活性をもつハチ毒ペプチド合成に関する研究
Studies on Peptides XCVIII. Synthesis of a Wasp Venom, Polistes Mastoparan. H. Yajima, N. Fujii, Y. Hirota, Y. Nasada, Y. Hirai and T. Nakajima, Int. J. Peptide and Protein Res., 16, 426 (1980). 他 3 篇
9. チトクロム, フェレドキソンなどの研究

Studies on Peptides XXXI. Synthesis of Two Model Pentapeptides related to Clostrial Ferredoxin. H. Yajima, N. Shirai and Y. Kiso, Chem. Pharm. Bull. (Japan), 19, 1900 (1971). 他 3 篇

[III] アルカロイドに関する研究

Lycoris Alkaloids. Part XXXI. A Structural Inter-Relationship of Lycorenine and Lycorine. S. Uyeo and H. Yajima, J. Chem. Soc., 1955, 3892. 他 10 篇

[IV] 駆虫薬に関する研究

駆虫薬の合成 (第 8 報), クロルデソルレゾルゾン及びクロルピデソルレゾルソンの合成, 富田真雄, 上尾庄次郎, 小林 茂, 矢島治明, 薬学雑誌, 71, 593 (1951). 他 2 篇

[V] ビタミンに関する研究

ペーパークロマトグラフィーによる 2-Amino-4-oxypyridine-6-aldehyde の性質の研究, 上尾庄次郎, 矢島治明, ビタミン, 5, 217 (1952). 他 1 篇

11' 州歌々牌轉' 線器

[I] 成書の一部として執筆したもの

1. 液相法によるベンチド合成, 日本生化学会編, 生化学実験講座, 第 1 巻, タンパク質の化学 IV, 207-400 (1977). 他日本語 9 篇

2. Synthetic Pituitary Hormones. K. Hofmann and H. Yajima, Recent. Prog. in Hormone Res., 18, 41 (1962). 他 5 篇

[II] 総説 (日本語)

ソートスタチンの化学, 日本臨床, 34, 120 (1976). 他 19 篇