

審査の結果の要旨

氏名 鳥羽 陽

生物体内に存在するタンパク質やペプチドは、そのほとんどが L-アミノ酸のみから構成されると考えられてきたが、近年、哺乳類を含めた高等動物から D-アミノ酸含有ペプチドまたはタンパク質が相次いで発見されている。ヒトに於いても多くの D-アミノ酸含有ペプチド（タンパク質）の存在が報告され、疾患との関連が議論されていることから、ペプチド（タンパク質）中の D-アミノ酸を容易に同定できる分析法の開発が急務となっている。鳥羽はこの課題に取り組む、従来から広く用いられている N 末端アミノ酸逐次配列分析法（エドマン法）を基礎として、蛍光試薬を用いることによる高感度化と順次得られるアミノ酸誘導体の光学異性体分離を検討し、アミノ酸配列のみならず D/L-絶対配置の決定をも可能なアミノ酸逐次配列分析法を、自動化をも視野に入れつつ検討した。

エドマン法によって得られる N 末端アミノ酸誘導体は数種類の誘導体に導くことができる。まず第一章では、ベンゾフラザン骨格を有する蛍光試薬を用い、従来法の測定対象であるチオヒダントイン誘導体への転換反応を省略した、チアゾリノン誘導体を測定対象とする分析法を開発し、高感度化と分析時間の短縮とを達成している。また、蛍光試薬のパラ位置換基が、検出するチアゾリノン誘導体の蛍光量子収率や安定性、反応効率に影響を及ぼすことを明らかにしている。

第二章では、カルバミン酸誘導体を測定対象とする N 末端アミノ酸逐次配列・D/L-絶対配置分析法を検討している。チオカルバミン酸誘導体からカルバミン酸誘導体への反応制御の困難な変換過程を HPLC-ポストカラム法によって行うことで、副生成物からの分離も必要とせず、また反応過程の省略によって

自動化への対応も可能にしている。さらに反応過程でのラセミ化を抑制するためにルイス酸(BF_3)を環化・切断反応試薬として用い、得られたアミノ酸誘導体を Pirkle 型光学活性固定相で分離することで D/L-絶対配置の決定をも可能とした。

第三章では、ベンゾフラザン化合物の蛍光特性と置換基との関係から蛍光の有無を予測し、測定対象のチオヒダントイン誘導体のみが蛍光を有するような蛍光エドマン試薬を設計し、実際に副生成物が蛍光を示さない新規蛍光試薬 (MTBD-NCS)の合成に成功した。MTBD-NCS を用いる逐次配列分析法では、環化・切断反応に BF_3 を、転換反応に塩酸-メタノール溶液を用いることでラセミ化を抑制し、得られたチオヒダントイン誘導体をセルロース型の光学活性固定相で分離することで D/L-絶対配置の決定を可能としている。最終的に、MTBD-NCS を用いてチオヒダントイン誘導体を検出する方法が誘導体の安定性、酸性アミノ酸の収率等の点で優れており、反応過程は従来法と同じであることから、市販のシーケンサーを用いた自動化を容易に行うことができ、今回検討した方法の中で最も実用性が高いと結論付けている。

従来、アミノ酸配列と D/L-絶対配置を同時に決定できる手法が確立していなかったため、D-アミノ酸含有ペプチド (タンパク質) の構造解析に多大な時間と労力が費やされてきている。このことから、本研究に於ける蛍光エドマン試薬を用いた高感度 N 末端アミノ酸逐次配列・D/L-絶対配置分析法は、自動化にも適した方法であり、更に検討を加えることにより、D-アミノ酸含有ペプチド (タンパク質) の構造解析における有力な手法となるものと期待される。本研究で得られたこのような知見は、分析化学の分野に貢献すること大であり、博士 (薬学) の学位に値するものと判定した。