

# PRF

蛋白質研究奨励会ペプチド研究所報 Vol.2 No.1 1975. 8

## 生理活性物質の検索

広島大学医学部教授 中嶋暉躬

我々のところは動物起源のいろいろな生理活性物質の検索とその構造解析を行なっているが、よく人から“そういう動物をさがすには何かヒントでもあるのですか”という質問をうける。私達に限らずよその研究室でもこの様なことをやっている人達は同じことを聞かれているに違いない。生理学的に意義づけがされている物質、たとえばホルモン作用をもつ物質の解明のようにその目的が限局されている仕事の場合はともかくとして、サンゴの一種から prostaglandin 類似体が単離された話など聞くと我々も同じ質問をしてみたいくなる。つまり、今までの科学の知識の累積からだけでは予想外のことのように思えるからだ。私が学生の頃、恩師石館守三先生からテーマの進め方についていろいろ伺っている時に、“やってみなくてはわからんよ 君”とさとされた事を思い出すが、今我々がやっている分野はこれと同じで、これから先何が飛び出すかわからないといった感じである。

我々のところの基本テーマは生体中の物質の微量解析法の開発であり、しかもその解析法は実際に役立つことが必要であり（応々にしてモデルにしか役立たないものが多いが）、実戦の経験から scope and limitation をはっきりさせることを考えている。従って、生体試料の対象として生理活性物質をとりあげ、方法としてダンシル法を用いてペプチドの解析を行なっているが、何かのきっかけがあれば糖であれ脂質であれ微量解析法の開発にとりかかるつもりである。

さて、再びヒントの話に戻るが、正直なところ、いろいろな動物が入手次第、いろいろな薬理活性のスクリーニングにかけているのが現状である。ただし、粗抽出液では活性のあらわれない場合が多いので、一旦イオン交換クロマトで粗く分離してから各分画について行なうようにしている。薬理活性のスクリーニングとしては、血圧作用、平滑筋作用、腺分泌作用などをみているが、現在までのところ多くのものが何かしらの活性物質をもっていることがわかっている。そこで、クロマトグラムと薬理活性スペクトルとををにらみながら次にねらうものを選択するわけである。



筆者近影

Ranatensin (Pyr-Val-Pro-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Phe-Met-NH<sub>2</sub>) を発見した時もそうであった。アメリカヒョウガエルの皮膚には多量のbradykininが含まれているが、皮膚抽出液の中には、bradykininより塩基性の弱い物質が含まれており、このものはラットの子宮筋に強く吸着するとみえて、持続的に収縮をくり返し、栄養液をとりかえてもなかなかもとに戻らなかった。このようなものはそれまで知られていなかったなのでその単離に着手したが、精製の途中で不溶化が起こり、条件が不適当な場合、カラム中に沈着して収率が落ちたり、共沈したりして得量が非常に低かった。塩類溶液にするか、酸性にすればこれが起こらないことがわかり、2回目からはうまく出来るようになった。そのアミノ酸組成からみると当時としては全く新しいものであり、構造も既知のものとは類似性がない新しいタイプの活性ペプチドであった。その後類似のアミノ酸配列をもつranatensin C, ranatensin R, bombesin, litorin, alytesinなどの活性ペプチドが発見され、薬理作用も検討され、Dr. Erspamerの言によれば、このタイプは“very peculiar spectrum of biological activity”であり、哺乳類に対しては、平滑筋に対する直接作用の他に、他の活性ペプチドの放出を促進あるいは阻害する作用を持っている。しかし、このペプチドは未だ両棲類の皮膚からしか発見されておらず、哺乳類も含めて他の動物界からは未知であり、また生理的な活性も明らかにされていない。

Xenopsin (Pyr-Gly-Lys-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu)は、薬理活性スペクトルからラット胃底を強く収縮させる物質であるらしいということから出発している。アフリカツ

メガエル (*Xenopus laevis*) は、その皮膚の活性物質についてすでに検討されている蛙であり、ペプチドとしては caerulein の存在が確認されていたが、実際にスクリーニングをしておしてみるとこれ以外のものが存在していることがわかったわけである。Xenopsin の単離精製には液滴向流クロマトが有効であった。構造解析では Arg-Pro 結合にかなり振りまわされた。アルギニンの前のリジンにダンシル基を入れると Arg-Pro 結合はトリプシンで切断されるようになり、よく切れるので最初は Arg-Gly 結合かと思っていた。しかし、その後の Birch 還元、パパイン分解などの結果と矛盾し、Arg-Pro でなければ話が合わなくなり、このために大部時間を費やした。Arg-Gly のものも合成してみたが活性は殆んどなかった。

Xenopsin もその構造からみて新しいタイプの活性ペプチドであったが、昨年、ワシントン郊外で開かれたカリクレイン—キニン系の会議(ここには蛋白研の鈴木先生をはじめ多数の顔なじみの方々がお出になっていた)でこのペプチドも含めて活性ペプチドの話をしたところ、すぐに反応があった。帰国後まもなくバックマンズピンコの清水明鏡氏が来広され、Dr. Carraway と Dr. Leeman が substance P を脳下垂体から精製の途中にとり出した活性ペプチド(彼らはこのペプチドがラット静注により強いチアノーゼを起こすことから、purple factor と呼んでいた) neurotensin の C 末端ペンタペプチド部分が、Tyr ↔ Trp の置換以外は同一であることを話してくれた。我々は、このペンタペプチド部分が活性発現の最小単位であることを合成的に確かめていたが、彼らも同様のことを行なっていたこともわかった。xenopsin は最初は胃底収縮物質として出発したが、このタイプのもは哺乳類にもあることがわかり、neurotensin と異なりチアノーゼは殆どなく他の活性も期待出来そうだったので、岡山大学の田坂教授にお願いして他のチェックもしていただいたところ、血糖上昇の他に胃酸分泌抑制効果が強いことがわかり、更に C 末端ペンタペプチド(我々はかりに pentaxenopsin と呼んでいる)は胃底収縮作用に比して胃酸分泌抑制作用が非常に強く、neurotensin との構造活性相関が大変興味深い。

また、いろいろな bradykinin 関連化合物が単離されているが、今までのところ蛙からのものはすべて bradykinin の C 末端部にペプチド鎖がのびており、蜂毒からのものはすべて N 末端部にペプチド鎖がのびているものがとれている。しかもこれらは 1 つとして同じ配列はなく、これらのものが哺乳類のキニン系と同様なシステムで生成されるとすれば、kininogen と kininogenase は種特異的なものが予想される。これらのキニン類はあまり多く出て来るので、一括して bradykininoid という言葉で呼んでもよさそうであり、我々のところではいちいち名前をつけるのがやっかいなので、ranakinin, bombakinin と呼びそれにとれた動物の種名の頭文字をつけて、たとえば、ranakinin-r(rugosa)

などと言っている。これらの中にはいくつかのThr<sup>6</sup>置換体が発見されている。Thr<sup>6</sup>-bradykininはカメのplasmakininであることが知られているが、これは薬理的にもクロマトグラフィー的にもbradykininと全く同じ挙動を示し、これだけでは区別がつかないので何か簡単な区別法が今後必要になろう。

薬理活性とクロマトグラフの挙動からみていくと予想されないものがとれる反面、全くありきたりの既知物質がつかまることがある。その物質の薬理作用が未知の場合はまだしも、それも既知であれば、ものをつかまえてからがっかりすることもある。こういう面から考えると、なるべく早期にそのものの本態を予測する方法の確立がのぞまれる。また、生物活性検定のシステムを変えれば、おそらくまだまだ多数の生理活性物質が発見されるものと期待される。

## 第4回アメリカペプチドシンポジウムに参加して

奨励会ペプチド研 木村 皓 俊

昨年の9月より留学生としてここ米国に来ていた私に、第4回アメリカペプチドシンポジウムに参加する機会が与えられた。奨励会ペプチド研究所の榊原所長が都合で参加できなくなったため私が出席させてもらうことになったわけである。こういう大きな国際学会に出席することは私にとっては初めてのことで少々荷が重く感じられたが、めったにない機会だと思い喜んで参加することにした。

シンポジウムは、今年6月1日より6日までニューヨーク市で開かれた。ニューヨーク科学アカデミーとロックフェラー大学の後援で、イリノイ大学のWalter教授をchairmanとする18名の組織委員によって準備運営が行なわれた。

今回は非常に多くの申込者があったが会場のスペースの関係上参加者に制限が加えられたが、それでも500名を越えるマンモス学会となったようで、20カ国からの参加が見られた。我が国からは、3日目のchairmanを引き受けられた京大の矢島教授をはじめ私達留学生も含めて14名が参加し、そのうち三共製薬の松枝氏、東京都老人研の長崎氏および矢島教授の3名が発表された。講演数も前回のシンポジウムにくらべるとかなり多く、約150件ほどの講演申込があったそうであるが、今回はスライドによる発表を100

件ほどに、ポスターによる展示を30件ほどに制限したそうである。

1日目は日曜日の午後より、向流分配法の開発で有名なCraig博士の追悼記念として彼に関係した5つの特別講演が行なわれた。

実際の発表は2日目から行なわれた。まず始めに、X線結晶解析、核磁気共鳴スペクトル、レーザーラマンスペクトルや赤外吸収スペクトルなどによるペプチドのコンフォメーションに関する発表があり、対象となるペプチドとしては、プロリンを含むペプチドが数多く選ばれていたようであった。

次の日は、アミノ酸の保護基に関する発表や、インシュリンのような複雑なペプチドの新しい合成法などが紹介された。この中でMerrifieldらのグループがアスパラギン酸やグルタミン酸を含んだペプチドのHF処理中におこる副反応について発表したが、アスパラギン酸の場合には $\beta$ -カルボキシル基の保護基としてベンジルエステルの代わりにフェナシルエステルの使用を紹介した。グルタミン酸の場合には、0℃、アニソール存在下、30分の反応では殆ど問題がないということに結論された。その他の発表としては、Kempらの“ペプチド合成における新しい試み”という表題の講演の中での新しい保護基や精製法、さらにChiba Geigy社のKamberらによる人インシュリンの新しい合成法などが特に興味をひいた。

4日目は、生物学的、構造化学的な方面よりみた下垂体後葉ホルモンの最近の進歩に関する報告とペプチド性抗生物質やプロティナーゼインヒビターなどに関する報告が集められたが、この中でMannigやdu Vigneardらによるオキシトシンのインヒビターに関する報告やこれら後葉ホルモンのコンフォメーションと機能の関係ならびにニューロフィシンとの相互作用などの報告に多くの質問やコメントが寄せられた。

5日目の午前中は、生理活性ペプチドに関する発表が行なわれ、クリーブランドの、KhoslaやCattらによるアンジオテンシンIIインヒビターの特異性に関する発表や、矢島教授らのブターモチリンの全合成を含むいろいろな生理活性ペプチドの単離精製、構造決定ならびにそれらの合成についての報告がなされた。

午後からは、脳の神経中枢に作用するペプチドに関する報告と、視床下部ホルモンに関する報告が行なわれた。de Wiedらは、オキシトシンやバソプレシンのアナログがラットに対して記憶をひき起こす作用があるということを見出し、特に、アルギニンバソプレシンが最も作用が強いということを明らかにした。Gessaらは、 $\beta$ -ACTH(1-24)をラット、猫、人間に投与したところ、sexual arousalが起こったと報告し、それらの模様を写真にて紹介した。長崎氏は、眠りを妨げられたラットの脳より眠りを引き起こす物質を単離精製し、そのものがペプチドであることを報告した。さらに、スコトフォピンで有名なUngarが、こんどは2種のLearning-Induced peptideをラットと金

魚の脳より単離精製し、それらのペプチドの構造決定を行ない、ラットから得られたものはアミノ酸数6ヶよりなるペプチドで *ameletin* と名付け、金魚から得られたものはトリコサペプチドで *chromodiopsin B. G.* と名付け、それらの合成も行なっていた。

視床下部ペプチドに関しては、AbbottのWhiteが、これまで研究されているTRH、LH-RH、GH-RH、GIFやMIFなどのreviewを行ない、それらの構造と活性の関係について報告した。この日の夕方よりSymposium Banquetが開かれたが、残念ながら私は出席できなかった。非常に多くの人々が出席し、論議が深夜まで及んだそうである。

最終日は、ペプチドあるいは蛋白質のultrasensitive sequence analysisやaffinity chromatography、あるいはマスマスペクトルによる分析方法などが紹介された。

つぎに、ポスターによる報告の中では、LH-RHのアナログとそのインヒビターに関する報告が、Schally、Rivier、Königらの3つのグループによりなされ、約90種類ほどのアナログの構造と作用が示された。しかし、これらのほとんどのペプチドが、母体としては藤野氏らによって開発された  $[\text{des-Gly}^{10}\text{-NH}_2]\text{-LH-RH-ethylamide}$  を、また、インヒビターとしてはGuilleminらの  $[\text{des-His}^2, \text{D-Ala}^6]\text{-LH-RH}$  を用いていた。その中には天然型LH-RHに比べて約140倍もの強い活性を有するアナログや、 $[\text{des-His}^2, \text{D-Ala}^6]\text{-LH-RH}$  を100%とした時に比べて約800%もの強いインヒビション作用を示すアナログなども含まれていた。その他にはRivierらがsomatostatinのアナログとそれらの活性について報告したが、この中で、 $[\text{D-Ala}^1]\text{-somatostatin}$  が天然物の約2倍の活性を有することを明らかにした。その他目立ったものとしては、Banerらが保護基の脱離にBoron Tris(trifluoroacetate) (BTFA) を用いれば従来のHF法と比較してあまり差がないということと、TrpやMetを含むペプチドの場合にはscavengerとしてThioanisoleの使用がよいことを紹介した。

以上興味のあるような発表内容をごく簡単に記したが、全般的にこれらの発表についての質問やコメントなどが非常に活発で、制限時間内におさまるものは少なく、chairmanが極力おさえていたことが印象に残った。

なお、このシンポジウムのProceedingsは短期間内に印刷発行されるとのことであるので、詳細はそれをご覧願いたい。

# Fourth American Peptide Symposium Program

## the Rockefeller University June. 1975.

1. Structure and Function of Snake Venom Toxins. D. Eaker (The University of Uppsala)
2. Subtilin and Nisin: The Chemistry and Biology of Peptides with  $\alpha$ -Unsaturated Amino Acids. E. Gross (National Institutes of Health)
3. Membrane Proteins Involved in Transport Processes. E. Guidotti (Harvard University)
4. Chemical Investigations of the Function of Hemoglobin from a Structural View. R.J. Hill (University of Tennessee Medical Units)
5. Protein-Nucleic Acid Interactions. W. Kholigaberg (Yale University)
6. The State of the Art of X-Ray Crystallography of Peptides. I. Karle (Naval Research Laboratory)
7. Relationship Between Secondary Structure of Poly- $\alpha$ -Amino Acids and Planarity of the Peptide Group. C. de Loe (CNRS)
8. Conformational Flexibility of Cycloprolyl in Solution - a Carbon-13 NMR Investigation. R. Deslauriers (National Research Council of Canada)
9. A Crystallographic Study of Cyclic Tetrapeptide; Flexibility of Prolyl Residues. M.L. Droyan (Hines Veterans Administration Hospital)
10. Study of Peptide Conformation by Laser Raman Spectroscopy. H.E. Stanley (Massachusetts Institute of Technology)
11. The Influence of Short-Range Interactions in Peptides and Proteins. S.S. Zimmerman (Cornell University)
12. Dielectric Constant or Dielectric Function? E. Ralston (National Research Council of Canada)
13.  $\beta$ -Turns of Tetrapeptide Derivatives in Solution. K.B. Koppie (Illinois Institute of Technology)
14. Conformational Mobility of Peptides as Evaluated from Spin-Lattice Relaxation Time ( $T_1$ ) and Spin-Spin ( $T_2$ ) Relaxation Times of  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$ . I.C.P. Smith (National Research Council of Canada)
15. The Relative Stabilities of the  $\beta$ -Structure of Homodisperse Synthetic Homopolypeptides with Aliphatic Side Chains. C. Toniolo (University of Padua)
16. A Novel Method for Conformational Analysis of Peptides in Oriented Polyoxyethylene by Infrared Dichroism. R.T. Ingwall (University of California at San Diego)
17. Conformational Properties of Oligopeptides Containing Two Aromatic Amino Acid Residues Separated by a Variable Distance. F.L. Luisi (ETH)
18. Analyses of Cyclic Peptide Conformations by Lanthanide-assisted NMR. F.E. Young (Harvard Medical School)
19. Sandwich Complexation of Metal Binding Cyclopeptides and its Biological Implications. Y.A. Ovchinnikov (Shevakin Institute of Biorganic Chemistry)
20. Carbon-13 NMR Studies of Complexes Between Amino Acids and Cyclic Peptides. C.M. Deber (Harvard Medical School)
21. The mechanism of Lipid Binding by the Plasma Apolipoproteins: Synthesis of Model Peptides. J.T. Sparrow (The Methodist Hospital)
22. A Possible Conformation for (Ala-Aze-Gly) $_n$ . A.S. Verdini (Snamprogetti S.p.A.)
23. Application of PMR and CMR to the Evaluation of Polypeptide Conformation. D.K. Urry (University of Alabama)
24. Difference NMR Spectroscopy of Peptides. The Use of Double Resonance, Shift Reagents and Isotope Replacements. W.A. Gibbons (University of Wisconsin)
25. Peptide Synthesis from the Practitioner's Point of View. D.F. Veber (Merck, Sharp & Dohme Research Laboratories)
26. Preferential Acylation of 'Non-Hindered' Peptide Bonds: Acylation and Methanolysis as a Means of Producing Fragrant Peptides. J.S. Davies (University College of Swansea)
27.  $\alpha$ , $\beta$ -Unsaturated and Thioether Amino Acids in Peptide Synthesis. E. Gross (National Institutes of Health)
28. Synthesis of Some Serine-Containing Glycopeptides. H.G. Garg (Massachusetts General Hospital)
29. General Method for Prediction of Rate Constants Useful in Peptide Synthesis. Further Studies on the Effect of Protecting Groups on Racemization Rates. J. Kovacs (St. John's University)
30. New Approaches to Peptide Chemistry. D.S. Kemp (Massachusetts Institute of Technology)
31. Polymeric Reagents in Peptide Synthesis: Recent Developments. M. Fridkin (The Weizmann Institute of Science)
32. Solid Phase Peptide Synthesis by Oxidation-Reduction Condensation. R. Matsueda (Sankyo Company Ltd.)
33.  $\beta$ -Phenacyl-Esters of Aspartyl Peptides to Minimize Succinimide Formation During HF Treatment. C.C. Yang (The Rockefeller University)
34. Side Reactions of Glutamyl Peptides in HF. R.S. Feinberg (The Rockefeller University)
35. Linear and Cross-linked Polymers as Chemical Reagents. H. Morawetz (Brooklyn Polytechnic Institute)
36. Automatically Programmed Synthesizer for the Liquid-Phase Peptide Synthesis. E. Bayer (University of Tübingen)
37. Combined Use of Soluble Supports and Solid Polymer Reagents for Peptide Synthesis. G. Jung (University of Tübingen)
38. Investigation of Solid Supports and Carboxy-protecting Groups in Alternating Liquid-Solid Phase Peptide Synthesis. H. Hagenmaier (University of Tübingen)
39. Enzymes as Reagents in Peptide Synthesis. C. Meyers (Brookhaven National Laboratory)
40. Studies on the Total Synthesis of Insulin. R.C. Hiskey (University of North Carolina)
41. A New Synthetic Pathway Leading to Human Insulin. E. Kamber (CIBA-GEIGY)
42.  $\beta$ -Crosslinked Insulins for Structure-Function and Reduction-Reoxidation Studies. D. Brandenburg (Deutsches Welforschungs Institut)
43. Partial Synthesis of Proteins. Experiments Using Basic Pancreatic Trypsin Inhibitor. R.C. Sheppard (Medical Research Council)
44. The Large-Scale Solid-Phase Synthesis of ACTH. R.L. Colecott (Armour Pharmaceutical Company)
45. Membrane Effects of Neurohypophysial Hormones. I.L. Schwartz (Mount Sinai School of Medicine of CUNY)
46. An approach to the Design of Neurohypophysial Peptides Possessing Selectively Enhanced or Inhibitory properties. M. Manning (Medical College of Ohio)
47. Iodo and Tritio Derivatives of Neurohypophysial Hormones. G. Flouret (Northwestern University McGraw Medical Center)
48. The Retention of Antioxytocin Activity by the Ring Moieties of [1-D-Mercapto-5,8-Diethylpropionic Acid]oxytocin and [1-D-Mercapto-8,9-Pentamethylene-propionic Acid]oxytocin. J.J. Nestor, Jr. (Cornell University)
49. Magnesium-Neurohypophysial Hormone Interactions in Contraction of Arterial Smooth Muscle. B.M. Altura (SUNY Downstate Medical Center)
50. Degradation by Human Placental Tissue Extracts of Oxytocin Radioactively Labeled in Positions 2 and 9. W.B. Watkins (University of Auckland)
51. Release of Melanocyte-Stimulating Hormone by Different Peptides Related to Oxytocin. M.E. Cells (Instituto de Investigacion Medica Mercedes y Martin Terreyra)
52. Spectroscopic Studies of the Conformation of Neurohypophysial Hormones in Solution. J.D. Dickson (University of Alabama)
53. Conformational Studies of the Neurohypophysial Hormones and Inhibitors Using High Resolution NMR Spectroscopy. V.J.J. Hruby (The University of Arizona)
54. The  $\beta$ -Turn in the Cyclic Motif of Oxytocin. H. Wyssbrod (The Rockefeller University)
55.  $^{13}\text{C}$  NMR Studies of the Binding of Selectively  $^{13}\text{C}$ -Enriched Oxytocin to its Neurohypophysial Carrier Protein, Bovine Neurophysin II. J.H. Griffin (CEN Saclay)
56. Kinetics of Oxytocin Binding to Neurophysin Measured by Temperature-Jump Relaxation. A.F. Pearlmuter (Medical College of Ohio)
57. Binding of Oxytocin to Bovine Neurophysins: Negative and Positive Cooperativity. D.B. Hope (Oxford University)
58. Structural and Mechanistic Studies of Antibiotics. C.H. Hassall (Roche Products Ltd.)
59. Interaction of Pepsin with Pepsstatin. A.C.M. Paiva (Escola Paulista de Medicina)
60. Conformation-Directed Proteolysis of Kunitz Bovine Trypsin Inhibitor. E. Acher (University of Paris)
61. Synthetic and Conformational Studies of Snake Venom Toxins. V.I. Iseltin (Shevakin Institute of Biorganic Chemistry)
62. Synthesis of Cyclic Tetrapeptides Related to Tenotxin. D.H. Rich (University of Wisconsin)

65. Solid-Phase Synthesis of an Octadecapeptide with Total Amino Acidity. J. Van Rietschoten (Faculte de Medicine)
64. The Design of Effective Renin Inhibitors. J. Burton (Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School)
65. Conformation and Biological Activity of the Toxic Cyclopeptides of *Amanita Phalloidea*. H. Faulstich (Max Planck Institut für medizinische Forschung)
66. Molecular Pharmacology of Peptides. K. Carr (National Institutes of Health)
67. On the Selective Antagonism of Myotropic and Steroidogenic Activity of Angiotensin II. M.C. Khasia (The Cleveland Clinic Foundation)
68. Cyclic Angiotensins. A. Loffert (UCB Division Pharmaceutique)
69. N,N'-Diprotected  $\alpha,\omega$ -Aminoalkanoic Acid Lysine Dipeptide Bronchodilators. L.C. Dorman (Dow Lepetit USA)
70. Studies of Bio-Active Analogs of Parathyroid Hormone *in vitro*. D. Goldman (Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School)
71. Synthesis of Litorin. R. de Castiglione (Laboratori Ricerche Farmitalia)
72. Total Synthesis of Porcine Motilin. H. Yajima (Kyoto University)
73. A New Approach for Studying the Metabolism of Peptide Hormones. H. Regoll (Medical School, University of Sherbrooke)
74. Pharmacological and Chemical Properties of Urotesin I and II Peptides from the Caudal Neurosecretory System of Bony Fishes. G. Moore (University of Calgary)
75. Biosynthesis of Melanocyte and Adrenocorticotrophic Hormones. D.G. Smyth (National Institute for Medical Research)
76. Peptide Aldehyde Inhibitors of the Fibrinogen-Thrombin Reaction. S. Bajusz (Research Institute for Pharmaceutical Chemistry)
77. Effects of Peptides on Memory. D. de Wied (University of Utrecht)
78. GRIF, LHRH, TRH, MIF-1, Substance P, Angiotensin Central Nervous System Studies. N.P. Plotnikoff (Abbott Laboratories)
79. Sexual Arousal: A Central Effect of ACTH-like Peptides in Mammals. G.L. Gessa (Universita di Modena and Cagliari)
80. Purification of Sleep-promoting Materials From Brain Stem of Sleep-deprived Rats. H. Nagasaki (Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology)

81. Learning-Induced Brain Peptides. G. Ungar (Baylor College of Medicine)
82. Structural Requirements for the Biological Activity of Neurotensin, A New Vasopressin Peptide. R. Carraway (Harvard Medical School)
83. Hypothalamic Factors: A Fluid Story. W.F. White (Abbott Laboratories)
84. Possibility for the Dual Control Role of the Hypothalamic Peptides. J.C. Vassileva-Popova (Bulgarian Academy of Sciences)
85. Conformationally Derived TRF and LRF Analogs. R. Donzel (University of California at San Diego)
86. Conformational Analysis of Growth Hormones and Synthesis of a Biologically Active Fragment of Human Growth Hormone. C. Penna (University of Colorado Medical School)
87. High-performance Liquid Chromatography and Droplet Counter-current Chromatography in the Peptide Laboratory. J.J. Pisano (National Institutes of Health)
88. Colorimetric Amino Acid Analysis Using Fluorescamine. A.M. Felix (Hoffmann-La Roche)
89. Quantitative Monitoring of the Redox Condensation of DBC-Amino Acids in the Merrifield Synthesis of Secretin Sequence. C. Birr (Max Planck Institut für medizinische Forschung)
90. Advances in Ultrasensitive sequencing Analysis of Peptides. H.D. Niall (University of Melbourne)
91. The Use of Dipeptidylaminopeptidase and Gas Chromatography-Mass Spectrometry in Polypeptide Sequencing. H.C. Krutzsch (National Institutes of Health)
92. Methodology and Application of Affinity Chromatography. D. Cowburn (The Rockefeller University)
93. Quantitative Affinity Chromatography and its Application to Studies of Ligand Binding by Semisynthetic Ribonuclease 'B' Analogues. I.M. Chaiken (National Institutes of Health)

## Poster Session Program

1. New Urethane Protecting Groups. C.R. Matsueda (University of Colorado School of Medicine)
2. Application of a New Repetitive Method to the Synthesis of a Pentapeptide Sequence from Angiotensin II. J. Burton (Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School)
3. New Probes for the Study of Acylation Reactions. J. Rebek (University of California, Los Angeles)
4. An Approach to the Synthesis of Dehydropeptides. C.N. Stammer (University of Georgia)
5. Characterization of Putative Cyclo-tetra L-Alanine. D.R. Wetlauffer (University of Minnesota)
6. Progress in the Synthesis of the Porcine Pancreatic Secretory Trypsin Inhibitor II (Mactal). R. Rocchi (Istituto di Chimica Farmaceutica)
7. Large Scale Solid-Phase Peptide Synthesis of the Thyrotropin Releasing and Lutetizing Hormone-Releasing Hormone. J.T. Sparrow (Baylor College of Medicine and The Methodist Hospital)
8. An Improved Polystyrene Support for solid Phase Peptide Synthesis. C.A. Benassi (Istituto di Chimica Farmaceutica)
9. Synthesis of Somatostatin (GIF). D. Puett (Vanderbilt University)
10. Somatostatin Conformation. K.U. Prasad (Indiana University School of Medicine)
11. Structure-Activity Relationships in Lutetizing Hormone-Releasing Hormone. D. Sarantakis (Weth Laboratories, Inc.)
12. Structure-Activity Studies in Somatostatin (SRIF). J. Rivier (The Salk Institute)
13. Lutetizing Hormone Releasing Factor and Somatostatin Analogs: Structure-Activity Relationships. H. Niedrich (Central Institute of Molecular Biology)
14. Approaches to Mechanism of Smooth Muscle Action of Substance P, Using Their C-Terminal Sequences and Acyl-Derivatives. S.E. Fellous (Duke University Medical Center)
15. Ovine Placental Lactogen: Structural and Functional Relationship with Primate Placental Lactogen, Growth Hormone, and Prolactin. W. Ebnig (Hoechst)
16. Structure-Function Relationships of Somadotiberin (LH-RH/FSH-RH).

17. Camel Inulin Analogue with B-Chain Shortened Both at the N- and C-Terminal End. W.D. Banho (University of Baghdad)
18. Characterization of Oxytocin Receptors on Isolated Rat Fat Cells. D. Bonne (Universite P. et M. Curie)
19. Oxytocin in Maternal and Fetal Blood. P. Kumarasani (Coney Island Hospital)
20. A Simple, Rapid and Quantitative *in vitro* Milk-Ejecting Assay for Neurohypophysial Hormones and Analogs. V.J. Hruby (The University of Arizona)
21. Effect of Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub> and Tonicin Acid on the Secretion of Melanocyte Stimulating Hormone From Rat Pituitaries Incubated *in vitro*. M.E. Celis (Instituto de Investigacion Mexico)
22. Angiotensin as a Tool to Study Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle. R.J. Freer (University of Connecticut Health Center)
23. Evolutionary Conservation of Ubiquitous Immunopeptidic Polypeptide (UBIP). D.H. Schlesinger (Massachusetts General Hospital)
24. Conformational States of Bradykinin in Solutions. Y.A. Ovchinnikov (Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry)
25. Molecular Design of a Cyclic Octapeptide Mimicking the 20(1) Binding Site of Carboxypeptidase. Theoretical Studies on the Conformation of the Peptide and its Zn(II)-Complex. R. Murguialakrishnan (The Hospital for Sick Children and the University of Toronto)
26. Synthesis of a Cyclic Octapeptide Designed to Mimic the Zinc-Binding Site of Carboxypeptidase. K.S. Iyer (The Hospital for Sick Children and the University of Toronto)
27. The Structure and Solution Conformation of Capreomycin IA and IB. R.W. Bycroft (University of Nottingham)
28. NMR Conformational Studies of Actinomycin Containing Sarcosine in Place of Proline. A.F. Hauger (Research Foundation of Washington Hospital Center)
29. Conformational Studies on L,D Alternating Polypeptides. P. DeSantis (Universita di Roma)
30. Isolation of Large Peptides by Preparative Polyacrylamide Gel Electrophoresis. H. Wada (Osaka University School of Medicine)



# 蛋白研メモ

## ひとの動き

- 鈴木友二 血液部門教授は、4月1日付けをもって停年退官され、明治薬科大学教授になられました。
- 西川克三 酵素部門助手は、4月14日付けをもって退職され、金沢医科大学助教授になられました。
- 木村滋 血液部門助手は、3月31日付けをもって退職され、関西医科大学助教授になられました。
- 阿久津秀雄 溶液部門助手は、4月1日付けをもって物性部門に所属換えになられました。
- 浅野朗 生理部門助教授は、6月12日より9月21日迄アメリカ合衆国及びスペインに出張されます。
- 吉川育雄 共同利用掛長は、5月1日付けをもって経済学部会計掛長として転出され、疋田豊弘氏が新しく着任されました。

## 蛋白研セミナー

i) 50年11月までに予定されるセミナー

題 目	開催予定	担 当 者	担 当 部 門
超分子生物学への展望	9 月	水野伝一・大沢文夫 佐藤 了	生 理 機 能
生物界循環系の利用の検討	9～11月	田中昌也	酵 素
蛋白質の水和	11、12	野口 肇・高木俊夫	溶 液
生体における情報受容機構	11 月	中川八郎	代 謝

ii) 50年11月から51年3月までに予定されるセミナー

- 立体区別反応機構に関するセミナー (50.11～12、有機)
- 動物細胞表面の動態 (50.11～51.1、生理機能)
- 細菌細胞壁成分の生理活性 (50.11～51.2、ペプチド)
- 分析用超遠心機による測定と結果の評価 (51.1、溶液)
- 蛋白性インヒビター類の生体内動態(仮題) (51.1～2、血液蛋白)

iii) “蛋白質の水和”プログラム

1. はじめに 野口肇 (名大農)
2. 水の液体構造と物性 荒川泓 (北大応電研)
3. 生体中の水について 上平恒 (繊維高研)
4. 水和と疎水結合 中垣正幸 (京大薬)
5. 高圧下における水の挙動と水和 鈴木啓三 (立命大理工)
6. 疎水基の水和 野口肇 (名大農)
7. 高分子の機能と水の役割 伊勢典夫 (京大工)
8. 総合討論

## 最近の話題

### Neurotensin

1973年 Leemanらは、bovine の視床下部から substans P を単離精製する過程において新しい生理活性ペプチドを発見し、neurotensinと名付けた。最近Leemanらはその構造決定に成功し、<sup>1)</sup>さらに固相法によって合成することによりその構造を確認した。<sup>2)</sup>

Pyr-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH

このペプチドは、血圧降下作用、平滑筋の収縮作用等からみるとkinin類の一種とみなされうるが、その他にもkinin類にはみられない生理作用をもっている。すなわち、このペプチドをラットの静脈に注射するとチアノーゼをひきおこし、血清中のadrenocorticosteroidのレベルの増加がみられ急速に一過性の過血糖症となり、さらにまた、血清中のLHやF S Hのレベルを上昇させるなどの強い作用が認められる。ちなみにこのペプチドのC末端部分の構造は、中島らによってカエルの皮膚より単離された xenopsin に極めてよく似ており、その生理作用も似ていることは興味深い。

今後合成品による研究が幅広く行なわれるに従い次第にその生体内における存在意義が明らかにされてゆくであろう。(奨励会ペプチド研 榎井美弘)

- 1) R. Carraway and S. E. Leeman, *J. Biol. Chem.*, 250, 1907(1975).
- 2) R. Carraway and S. E. Leeman, *ibid.*, 250, 1912(1975).

### 光照射によるo-ニトロベンジル基脱離法の新しい応用

オルト位にニトロ基を持つベンジル基が、光照射により分子内で酸化還元反応を起こし、o-ニトロベンズアルデヒドを経由して脱離されることは1970年Patchornikら<sup>1)</sup>によって見い出された。最近、Kalbagら<sup>2)</sup>は、Boc-His-OMeの銀塩にo-ニトロベンジルプロマイドを反応させて側鎖にo-ニトロベンジル基を導入したのち、エステルをケン

化して Boc-His(o-Nitro benzyl) を合成した。この化合物に紫外線を当てるとo-ニトロベンジル基が脱離しBoc-Hisが定量的に回収できることより、この方法がimidazoleの新しい保護基として利用できることが示された。

一方、Richら<sup>3)</sup>は、o-nitro-4-bromomethyl-benzoylamide polystyreneを合成し、固相合成の支持体に用いることを試みた。従来の固相合成に用いられている保護基は大部分が光に対し安定なものであるため、この樹脂を用いれば、末端のカルボキシル基のみが遊離のペプチドフラグメントを得ることが可能となる。彼らはこの方法により、LH-RH関連のペプチドフラグメント Boc-Leu-Arg(Tos)-Pro-Gly, Boc-Ser(Bzl)-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Arg(Tos)-Pro-Gly, Pyr-His(Tos)-Trp-Ser(Bzl)-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Arg(Tos)-Pro-Gly及びBoc-Ser(Bzl)-Tyr(Bzl)-Glyを合成した。この方法によれば、従来のMerrifield樹脂では合成できなかったGlu(OBzl), Asp(OBzl)などを含むペプチドフラグメントの合成も可能である。(奨励会ペプチド研 岸田保雄)

- 1) A. Patchornik, B. Amit, and R. B. Woodward, *J. Amer. Chem. Soc.*, 92, 6333(1970).
- 2) S. M. Kalbag and R. W. Roeske, *J. Amer. Chem. Soc.*, 97, 440(1975).
- 3) D. H. Rich and S. K. Gurwara, *J. Amer. Chem. Soc.*, 97, 1575(1975).

### 70個のアミノ酸残基からなるRNase S-Protein 類似ポリペプチドの合成

近年数多くの酵素蛋白質の立体構造がX線解析法によって明らかにされ、その活性中心を構成する部分と、全構造をささえて活性中心部に可動性を与えている部分とに区別して認識することが可能となった。

Gutte はさきにMerrifieldと共に、固相法によるRNase A 全合成を試み、その最終精製物がほぼ天然物に近い活性と基質特異性を示すことを確認した。<sup>1)</sup>今回彼は、RNase A のS-protein部分の

うち、外部に突出したループ部分を1乃至2個のアラニンまたはグリシンに置き換えて簡略化し、基質との反応に関与している部分のみを残して70個のアミノ酸からなるS-protein analogをデザインし、前回と同じ方法によって固相法にて合成した。<sup>2)</sup> 生成物は、精製後、モノマー およびダイマーとして存在し、それらを単独か或いは天然のRNase S-peptideまたはS-proteinと共存させることにより、弱いながらもRNase Sとしての活性を示し、しかも、DNAまたはRNase T<sub>1</sub>の基質に対しては全く作用しないことを確認した。

この様な試みは、天然酵素の作用機作を明らかにするうえに重要であるばかりでなく、天然物と同様の高度の活性中心部構造をもった人工酵素を合成する初めての試みとして注目に価するものと思われる。(奨励会ペプチド研 瀬戸保彦)

1) B. Gutte, and R. B. Merrifield, *J. Biol.*

*Chem.*, **246**, 1922(1971).

2) B. Gutte, *ibid.*, **250**, 889(1975).

#### NMRによるラセミ化度の測定法

NMRによるラセミ体の定量法については、今までもWeinsteinら<sup>1)</sup>の報告がある。彼らは、aromaticなアミノ酸とアラニンからなるジペプチドのシグナルのうち、アラニンのメチル基のシグナルがベンゼン環のdiamagnetic shieldのため、L-L体とD-L体で異なることを利用した。一方、Davisら<sup>2)</sup>は、ベンゾイルジペプチドメチルエステルのジアステレオマーの場合、エステルのメチル基がベンゾイル基に対し空間的に異なった位置にくるため、相互に異なったchemical shiftを与えることを利用した。例えば、Bz-Val-Val-OMeの場合、L-L体の $\tau$ 値は6.35に、D-L体では6.42にある。彼らはこの原理を応用して、種々の条件下でBz-ValとVal-OMeの縮合反応を行ない、各縮合法によって得られた生成物中におけるD-L体の存在比率を測定して次のような結果を得た。

Azide法…0%、DCC法…48%、DCC/HOSu法…10%、DCC/HOBt法…13%、MA法(TEA)…46%、MA法(NMM)…21%、EEDQ法…22%、Woodward's Reagent K法…33%

このモデルペプチド合成条件は、通常のペプチド合成の場合にくらべて10倍以上もラセミ化しや

すいため、この方法はより厳しいラセミ化テスト法といえる。(東洋醸造研究所、野田俊治)

- 1) B. Weinstein and A. E. Pritchard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1015(1972).
- 2) J. S. Davis, R. J. Thomas, and M. K. Williams, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 76(1975).

#### 新たなアンジオテンシン遊離機構存在の可能性

生体内におけるアンジオテンシン生成の機構としては、アンジオテンシノーゲンにレニンが作用してアンジオテシン I が遊離し、さらに転換酵素が働いてアンジオテシン II が生成するルートがもっともよく知られている。これに対し、数年前からもう一つ別の酵素群の存在が指摘されている。すなわち、Boucherら<sup>1)</sup>はラットの下垂腺より“Tonin”と称する酵素を単離し、それが合成レニン基質(テトラデカペプチド: TDP)から直接アンジオテシン II を遊離する新しい酵素であることを示した。

最近Boazら<sup>2)</sup>は、人の肺からToninとよく似た作用を示す酵素を分離し、Angiotensin I-[Phe<sup>8</sup>His<sup>9</sup>]-Hydrolase (APHH)と名付けた。このものはSephacrose 6Bによるゲル口過で、Tonin(分子量31,400)よりはるかに大きい分子量を示す分画(60万と45万)に現われる。しかし、その特異性は相互によく似ており、人の天然レニン基質からアンジオテシンを遊離せず、合成TDPからアンジオテシン II を直接遊離する。この酵素は、Toninと同じくEDTAによって阻害されることなく活性発現にCl<sup>-</sup>も必要としない。また、銅イオンによって阻害される点も全く共通である。

この酵素の精製が進み、基質特異性が明らかになれば、動物体内における存在意義も順次明らかになるであろう。(奨励会ペプチド研 本田一郎)

- 1) R. Boucher, J. Asselin and J. Genest, *Circ. Res. Suppl.*, **34/35**, I-203(1974).
- 2) D. Boaz, S. Wyatt and A. Fitz, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **63**, 490(1975).

### アルギニン残基の可逆的修飾

タンパク質中に含まれるアルギニンのグアニド基を選択的に修飾してタンパク質の構造研究に役立てる試みは数多く行なわれてきたが、その多くは副反応が多い、選択性に乏しい、非可逆的であるなどの弱点を持っていた。

Patthyら<sup>1)</sup>は、1,2-Cyclohexanedioneを用いる新しい修飾法を試みて、それが可逆的であることを見いだした。この試薬はグアニド基と選択的に反応して  $N^7$ ,  $N^8$ -(1,2-Dihydroxycyclohex-1,2-ylene) 体となるが、この誘導体は酸性条件や borate buffer 中では安定であり、ヒドロキシルアミンによって定量的にアルギニンに戻すこと

ができる。

この方法でタンパク質中のグアニド基を修飾すると、トリプシン消化によりリジル結合のみを切断することができ、しかも、得られたペプチドフラグメントをヒドロキシルアミン処理することによってもとのアルギニルペプチドに戻すことが可能となる。彼らはこの方法を RNase A に応用してその有用性を確認した。(奨励会ペプチド研 高田克巳)

- 1) L. Patthy and E. L. Smith, *J. Biol. Chem.*, **250**, 557(1975).

## PRF · NEWS

### 暑中お見舞申し上げます

PRF も誕生 1 周年を迎え、愈々第 2 巻発行の運びとなりました。ひとえに皆様方のご支援の賜と厚くお礼申し上げます。編集者一同心を新たにし内容の充実に一層努力を重ねていく所存でございます。今後の発展にどうかご期待下さい。

### ペプチド情報サービス

会員の皆様に毎月お届けしている“Peptide Information”がだんだんに厚くなってきました。只単にペプチド合成に関係ある文献のみでなく、ペプチド関連のあらゆる情報を網羅すべく調査の対象を広げているからです。いわゆる低分子のペプチドのみでなく、天然の蛋白質も構造が明確であり純度に問題がなければ広義のペプチドとみなし、それらの物性や修飾、反応、分析などに関する論文を積極的に採録しています。また、ペプチドの医学的な応用論文にも注目しています。

年末には Peptide Information の索引を発行いたしますので一層利用価値が上がるものと確信いたしております。サービスの内容や入会案内などについてお知りになりたい方は、本会情報係までお問い合わせ下さい。

○新製品発売、新包装品、価格改訂品、カタログ外在庫品特売については別紙をご覧ください。

**PRF** Vol. 2 No. 1 | 1975. 8

編集発行 財団法人 蛋白質研究奨励会  
〒562 大阪府箕面市稲476 TEL 0727(29)4121