

26章：今回の要点

26章 アミノ酸, ペプチド, タンパク質, 核酸
自然界に存在する含窒素ポリマー p1562-1585

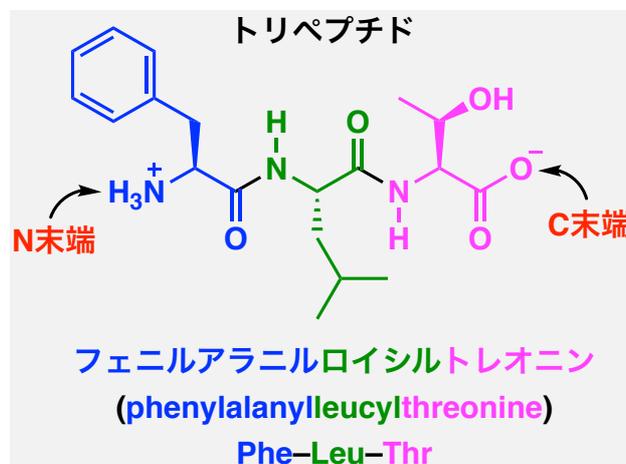
- (1) ペプチドの性質とタンパク質の構造：
一次構造から四次構造
- (2) アミノ酸の配列決定：Edman 分解
- (3) ポリペプチドの合成法：
保護基の利用と縮合剤(DCC)
- (4) 自動ペプチド合成：
Merrifield のペプチド固相合成法
- (5) 核酸：遺伝情報伝達物質 DNA と RNA
 - ・糖と塩基
 - ・ヌクレオシドとヌクレオチド

26-4：ポリペプチド p1559

・慣例的なポリペプチドの表記法

1. アミノ末端(N末端アミノ酸)が左、カルボキシ末端(C末端アミノ酸)が右
2. アミド結合を含む鎖を主鎖、2位置換基(RやR')を側鎖と分類

→主鎖をジグザグ表記、上側の側鎖はくさび形結合、下側の側鎖は破線結合



- ・ポリペプチドの命名法：N 末端から順に各アミノ酸に”yl”をつけ形容詞として結合順につなぐ。最後は C 末端残基となる (N末端→C末端の順)。大きなペプチドに対しては、3文字の略語を結合順にハイフンでつないで表記

26-4：タンパク質構造の基礎

タンパク質の構造は一次構造、二次構造、三次構造、および四次構造の四つの階層的な構造により表現される

一次構造：タンパク質を構成するアミノ酸の種類と結合順(=配列)、およびジスルフィド架橋の位置(p1562)



二次構造：タンパク質の局所的な領域の三次元立体配座

- ・ α -ヘリックスと β -プリーツシート

三次構造：ペプチド鎖全体がとる三次元構造

- ・ 分子全体がいかに折りたたまれているかを示す

四次構造：複数のタンパク質が集合した会合構造

26-4：タンパク質の二次構造 p1562



ポリペプチド鎖の間には一つのアミドの N-H プロトンと別のアミドの C=O 酸素間の水素結合がある

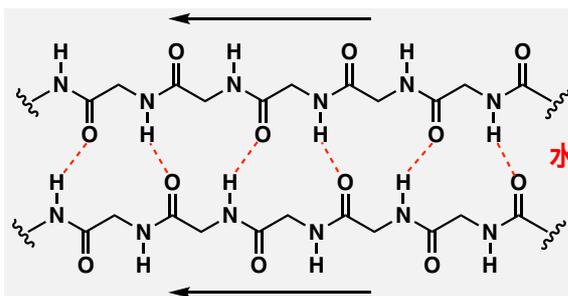
重要：アミノ酸残基の配列に依存して、ペプチドは α -ヘリックスと β -プリーツシート (β -シート) の2つの安定な部分構造をとる

β -プリーツシート (β -シート) 二つ以上のペプチド鎖が隣り合って列をなす構造

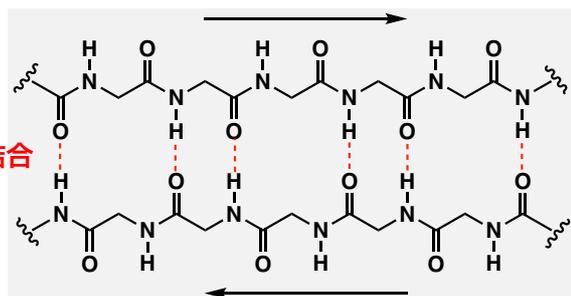
平行 β -プリーツシート

側鎖(R)は省略

逆平行 β -プリーツシート



鎖がN末端からC末端に向かって
同じ方向で並ぶ



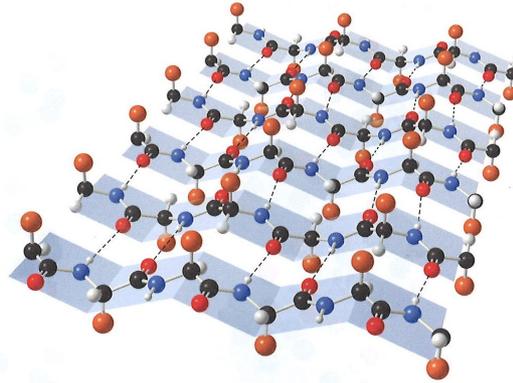
鎖がN末端からC末端に向かって
逆方向で並ぶ

26-4：タンパク質の二次構造 p1562

β -プリーツシート(β -シート)

構造上の特徴：

- 1) C=O 結合と N-H 結合はシートの平面上にある
- 2) 隣り合うアミノ酸残基の N-H 基と C=O 基の間で水素結合を形成する
- 3) アミノ酸の側鎖(R)はシート平面の上下を向く
- 4) 連続した”ひだ”をもつような形状



スミス有機化学第5版,1302ページより抜粋

アラニンやグリシンのような側鎖(R基)が小さなアミノ酸によく見られる

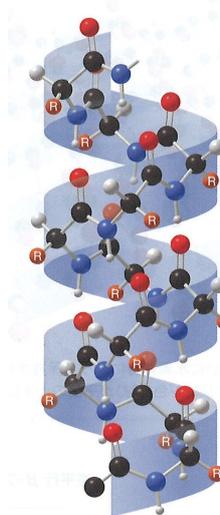
26-4：タンパク質の二次構造 p1563

α -ヘリックス 同一ペプチド鎖中の水素結合による右巻きのらせん構造

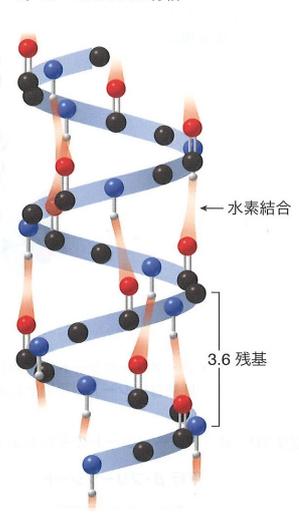
構造上の特徴：

- 1) ヘリックスはアミノ酸3.6残基ごとに1回転する(右巻き=時計回り)
1巻きは 5.4Å
- 2) N-H および C=O 結合がヘリックスの軸に沿って並ぶ
(全ての C=O 結合は同じ方向を向き、全ての N-H 結合はその逆方向を向く)
- 3) C=O 基は4つ先のアミノ酸残基の N-H 基と水素結合する
(水素結合はヘリックスの軸に平行)
- 4) アミノ酸の側鎖(R基)はヘリックスの外側を向く

a. 右巻きの α -ヘリックス



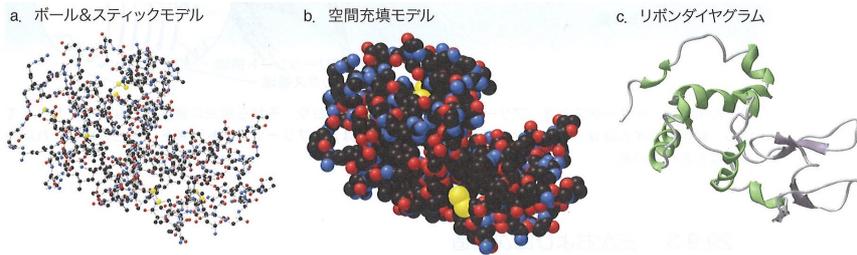
b. α -ヘリックスの骨格



スミス有機化学第5版,1301ページより抜粋

26-4：タンパク質の三次構造 p1563

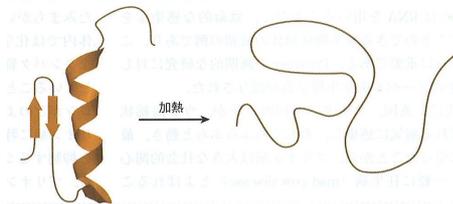
ジスルフィド架橋、水素結合、London 力、静電的親和力と反発力などさまざまな力が関与して、三次元構造が安定化される



リゾチームの三次元構造(スミス有機化学第5版,1303ページより抜粋)

変性：タンパク質の三次構造が破壊されること
(要因：pH 変化、尿素やグアニジン塩酸塩のような反応剤, 洗剤, 熱, 攪拌)

具体例：**卵の調理**
(アルブミンの変性により
透明な液体から白色固体へ変化)



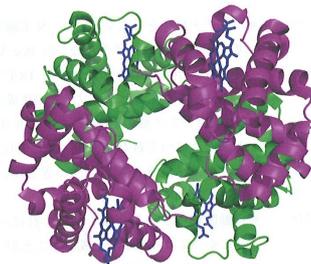
クライン有機化学,1083ページより抜粋

変性が起こるとタンパク質は二次構造や三次構造を失う(一次構造は保持)

26-4：タンパク質の四次構造 p1566

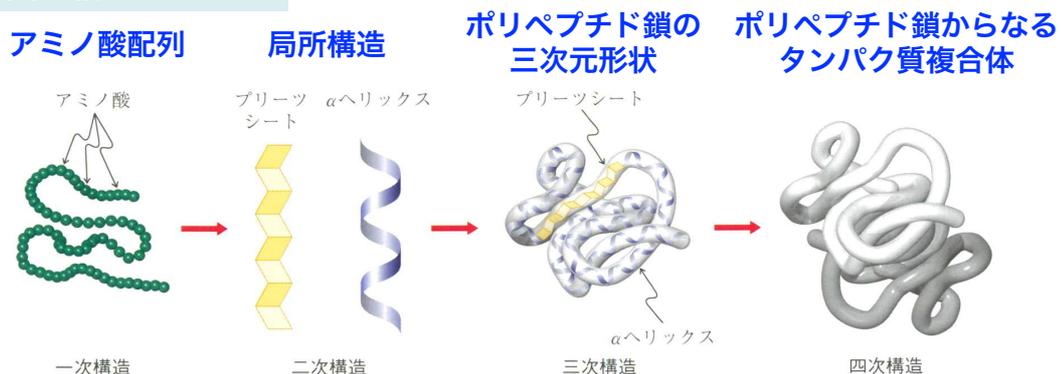
二つ以上の複数のタンパク質の折りたたまれたポリペプチド鎖が、一つの**タンパク質複合体へと集合した形状**のものを**四次構造**という

ヘモグロビンの四次構造：
2種類のサブユニットが
2個ずつ存在する四量体



ブルース有機化学第7版,1229ページより抜粋

タンパク質の構造のまとめ



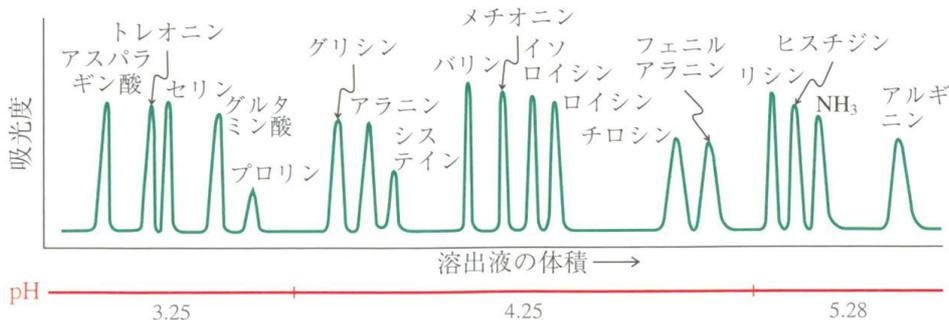
26-5 一次構造の決定：ペプチド配列の決定 p1567

ポリペプチド(またはタンパク質)の構造決定には、①アミノ酸の種類、各アミノ酸の②個数と②結合順序(配列)を決定する必要がある

第1段階：ポリペプチドの精製(省略, p1567)

第2段階：アミノ酸分析→種類と個数がわかる

ペプチド鎖全体を酸で完全に加水分解し、遊離のアミノ酸混合物とする
次いでこの混合物をアミノ酸分析計で分離し、構成成分を知る

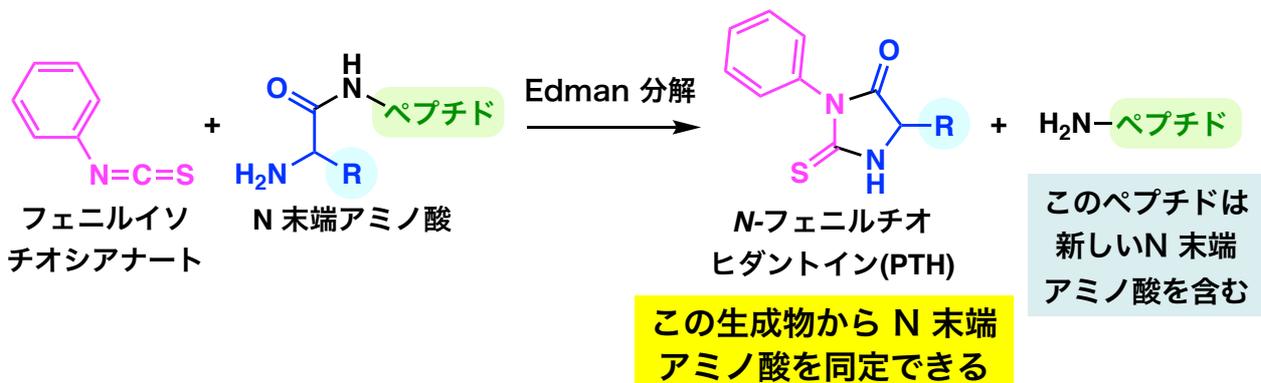


- 各アミノ酸は固有の保持時間をもつため、同定できる
- 各ピーク面積がアミノ酸の相対量を示す指標になる

重要：26-5 Edman 分解 p1569

第3段階：ペプチドの配列決定

重要：Edman 分解でペプチドの配列を N 末端から順番に決定できる

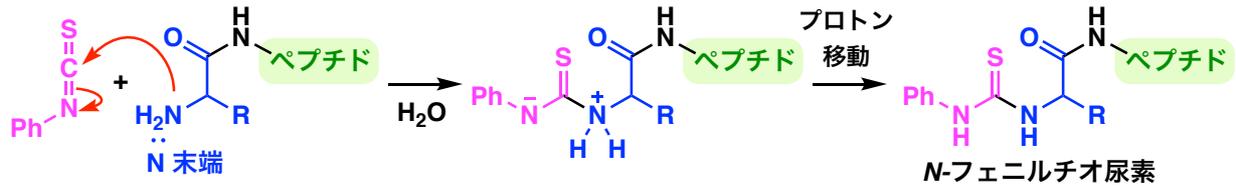


Edman 分解を繰り返すことで、ポリペプチドの配列が決定できる

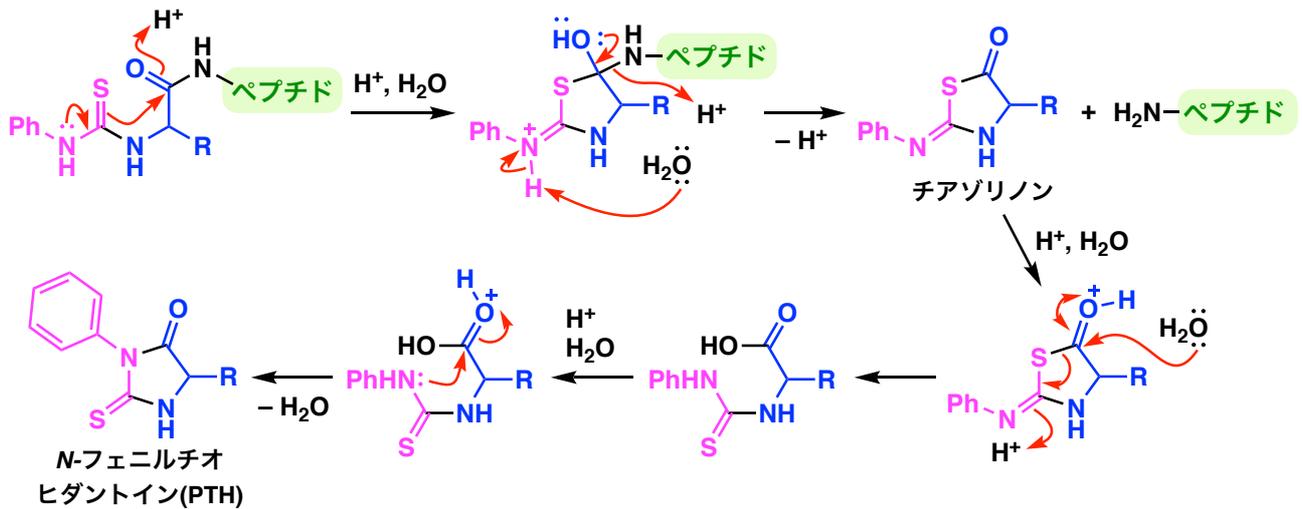
注意：Edman分解で配列が決定できるポリペプチドは、50残基程度まで
長いポリペプチドに対しては、短いフラグメントに切断後
Edman分解する

26-5 : Edman 分解の反応機構 p1570

段階1 : N-フェニルチオ尿素の生成



段階2 : N-フェニルチオヒダントインの生成



参考 : 26-5 ペプチドの部分的加水分解 p1571

注意 : Edman分解で配列が決定できるポリペプチドは、50残基程度まで
長いポリペプチドに対しては、短いフラグメントに切断後にEdman分解する



特定の位置を加水分解できる酵素を用いることが多い
(酸加水分解ではアミド結合が無作為に切断される)

酵素	切断部位
カルボキシペプチダーゼ	C末端アミノ酸に最も近いアミド結合
キモトリプシン	Phe, Tyr, Trp のカルボニル基に由来するアミド結合
トリプシン	Arg, Lys のカルボニル基に由来するアミド結合

例 : キモトリプシンはここを切断 カルボキシペプチダーゼはここを切断

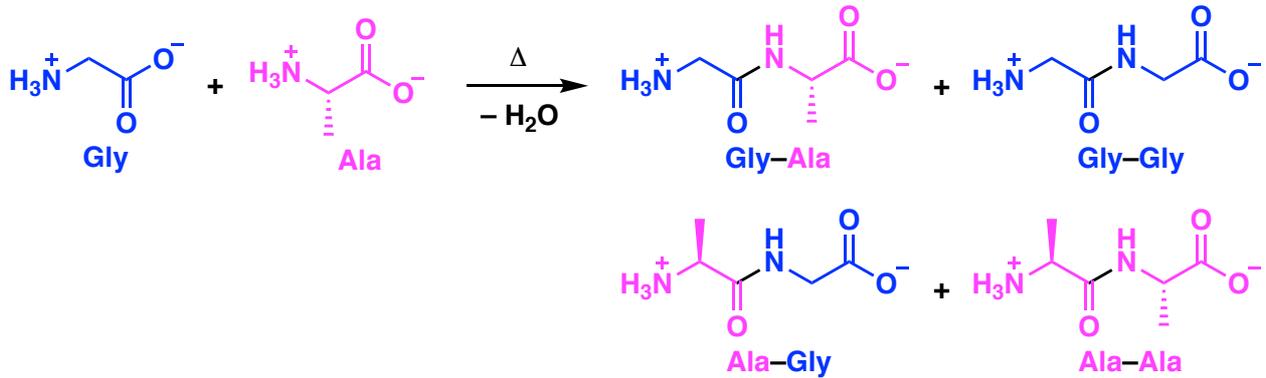


トリプシンはここを切断

他の酵素の切断位置については表26-2を参照

26-6 : ポリペプチドの合成 p1573

ジペプチドの合成



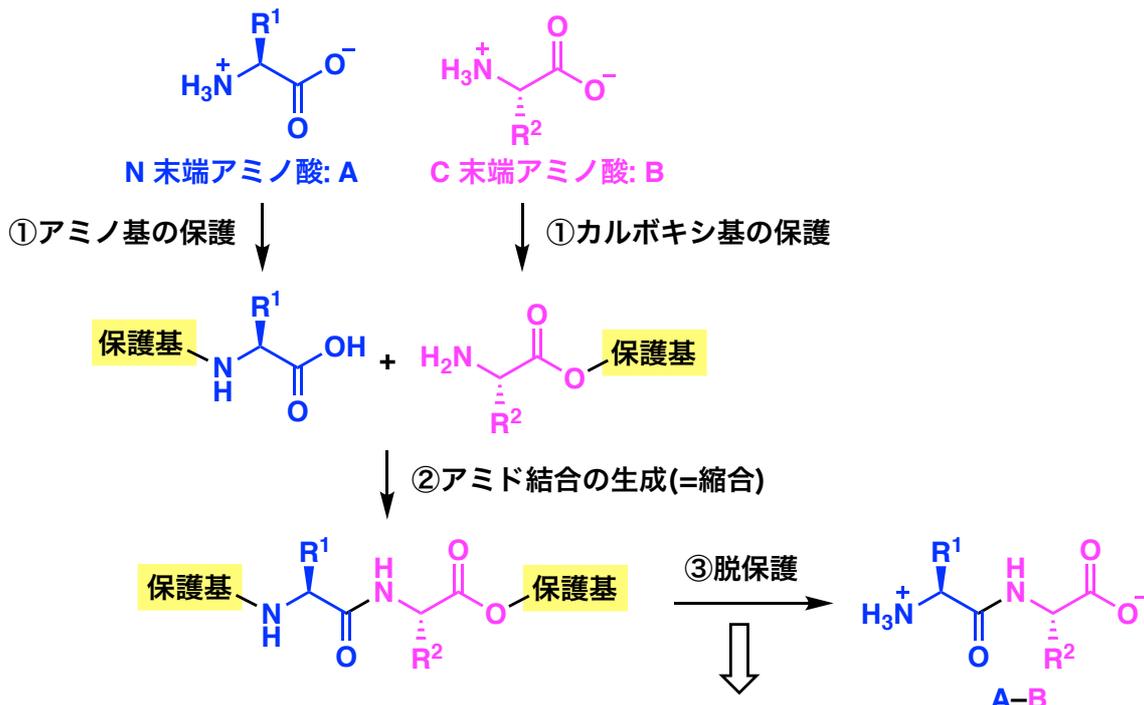
2つのアミノ酸の加熱脱水による合成では**混合物**になる



重要 : ペプチド結合を選択的に生成させるためには
反応させたくない官能基を**保護**し、その後アミド化する
反応させたくない官能基 = アミノ基とカルボキシ基

26-6 : ペプチドの合成の基本戦略 p1573

選択的なペプチド合成には ①~③の3段階を経る



保護 → 縮合 → 脱保護、の順で合成

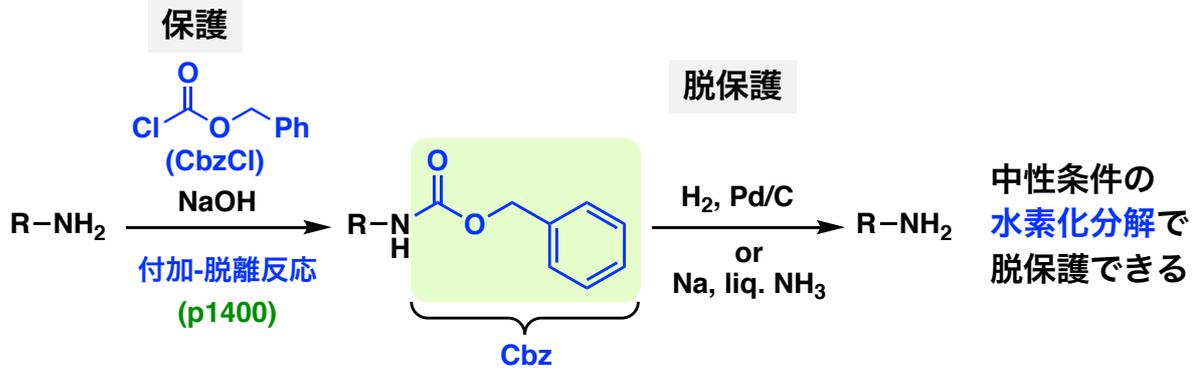
ポリペプチド合成の際は
片方だけ脱保護する

26-6 : アミノ基の保護基 p1574

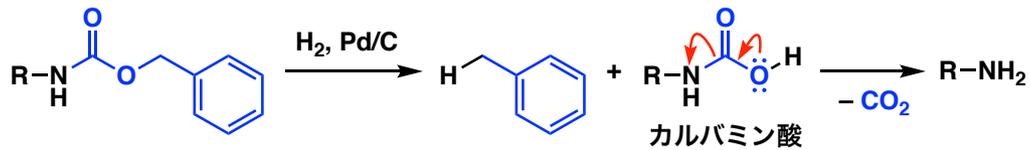


電子豊富なアミノ基は
電子求引性のカルバマートで
保護されることが多い

1) フェニルメトキシカルボニル基 (Cbz基)

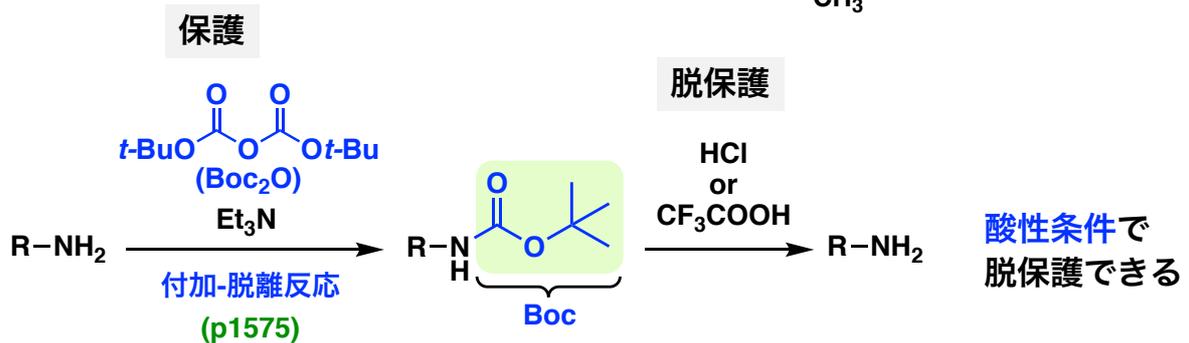
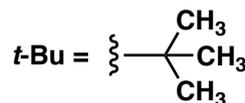


脱保護の反応機構

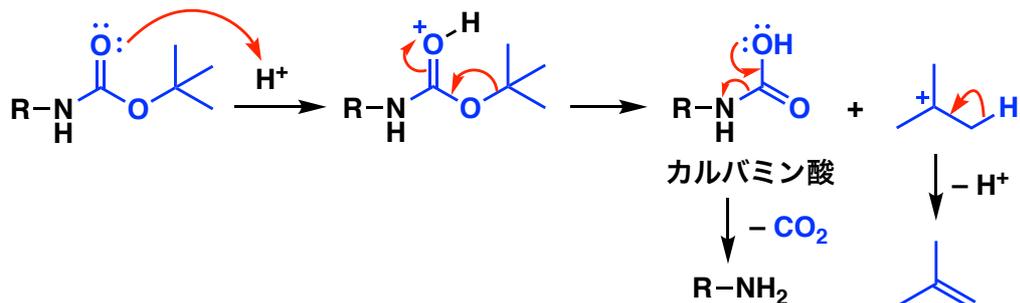


26-6 : アミノ基の保護基 p1574

2) tert-ブトキシカルボニル基 (Boc基)



脱保護の反応機構



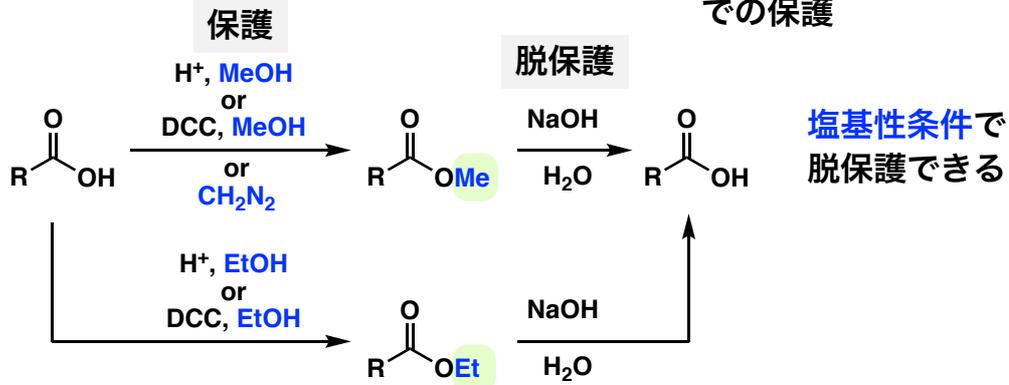
安定な第3級カルボカチオンが生成するため反応が進行

26-6：カルボキシ基の保護基 p1576

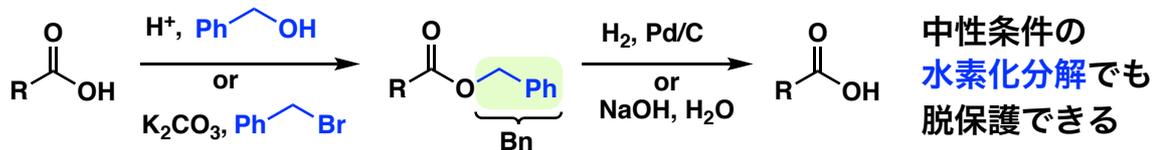
アミノ基の保護基と相補的な条件で脱保護できる保護基が用いられる

1) メチルエステル(Me)とエチルエステル(Et)

単純なアルキルエステルでの保護

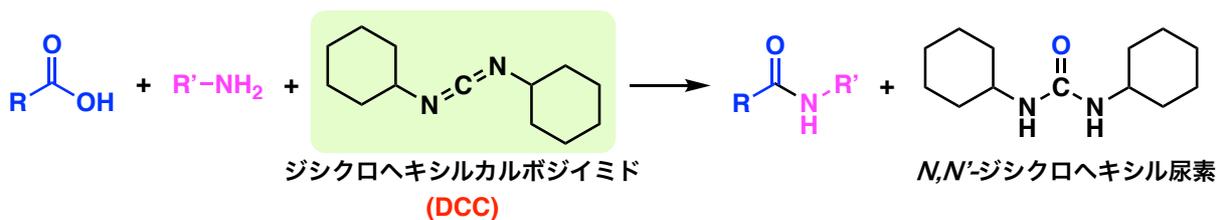


2) ベンジルエステル(Bn)



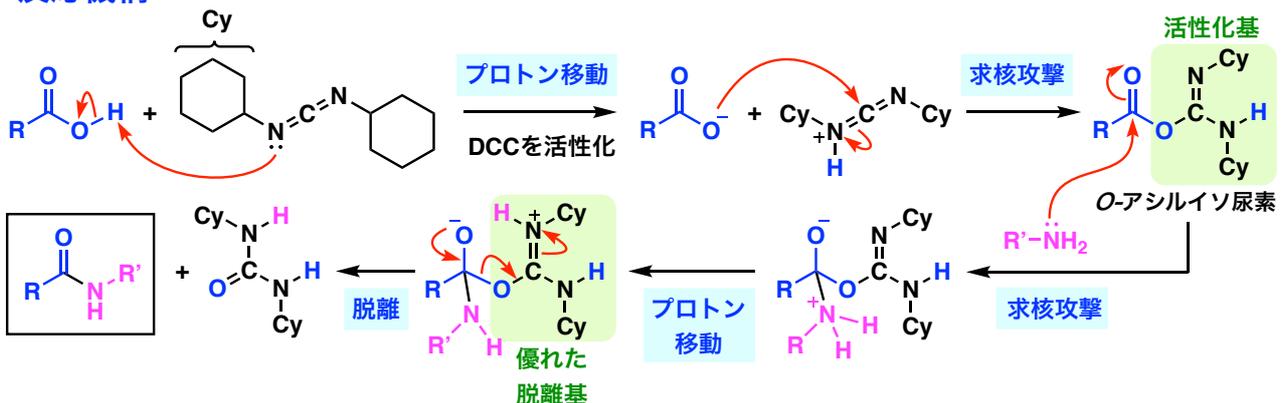
26-6：ペプチド結合の生成 p1576

超重要：ペプチド結合はカルボキシ基の活性化を利用して生成する



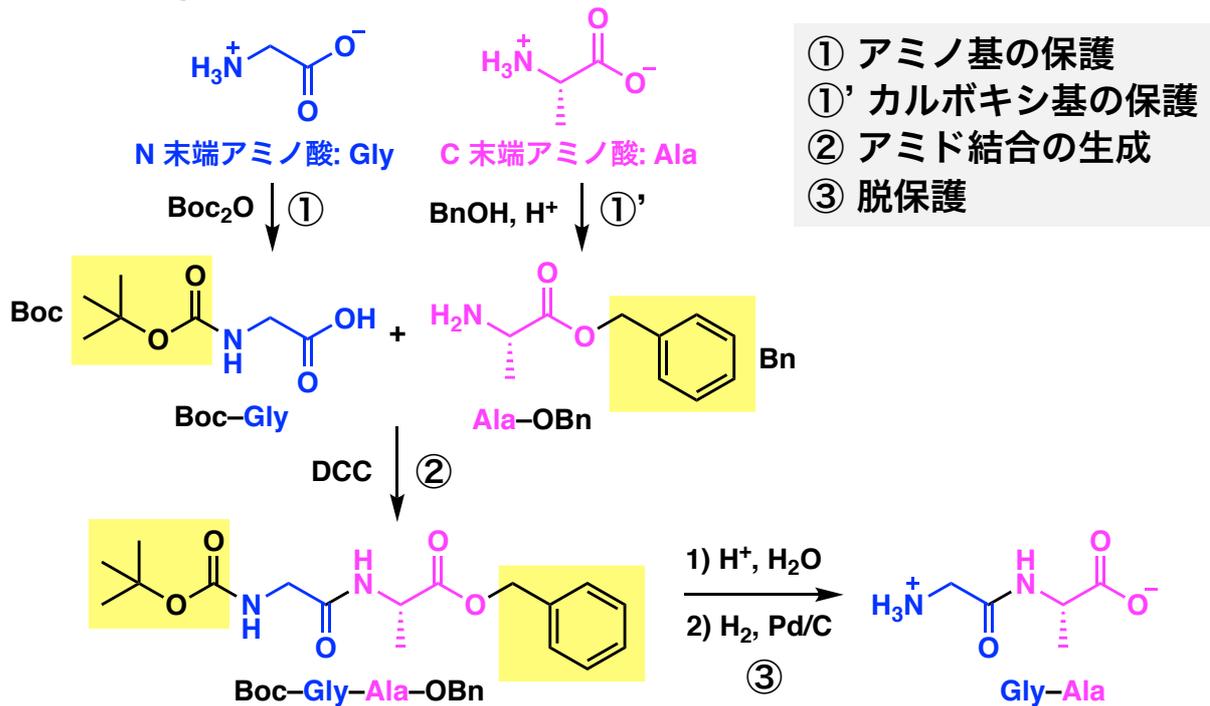
一般的な反応剤は DCC、温和な条件下でアミド化が進行する

反応機構



26-6 : ジペプチドの合成 p1576

具体例 : Gly-Ala の合成

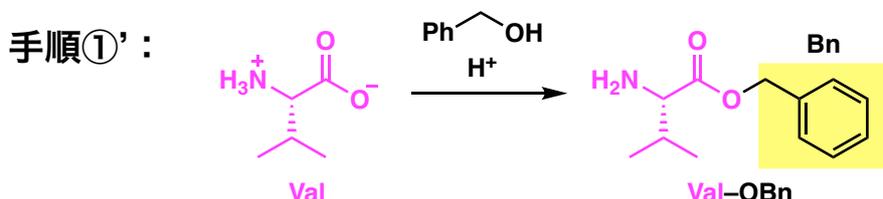
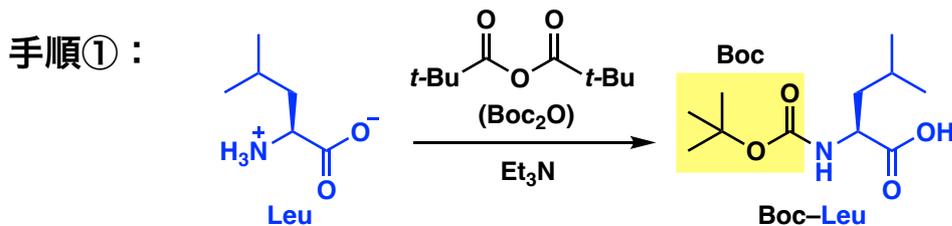


より長いペプチドを合成する際は、一方の末端だけの脱保護を行い、新たな縮合反応を繰り返す

練習問題

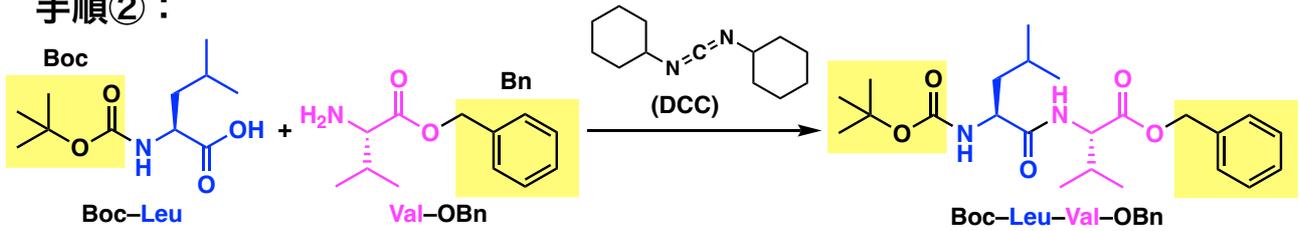
アミノ酸を出発物質として、Leu-Val を合成する方法を示せ。
なお、N 末端アミノ酸の保護基は Boc 基を、C 末端カルボキシ基の保護基は Bn 基を用いるものとする。

解答 : ロイシン(Leu)が N 末端、バリン(Val)が C 末端
合成の手順は、① N 末端アミノ酸のアミノ基の保護、
①' C 末端アミノ酸のカルボキシ基の保護
② アミド結合の生成、③ 脱保護、の順



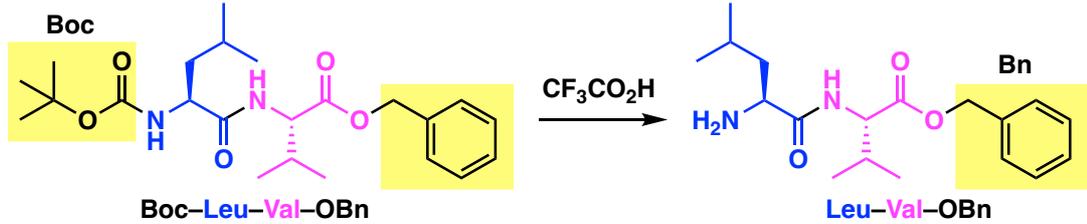
練習問題

手順②：

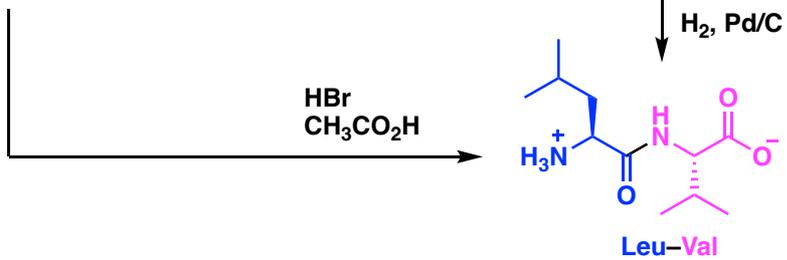


手順③：

Boc 基の脱保護にはトリフロロ酢酸が汎用される



臭化水素/酢酸を用いると
Boc 基と Bn 基の
両方が脱保護できる



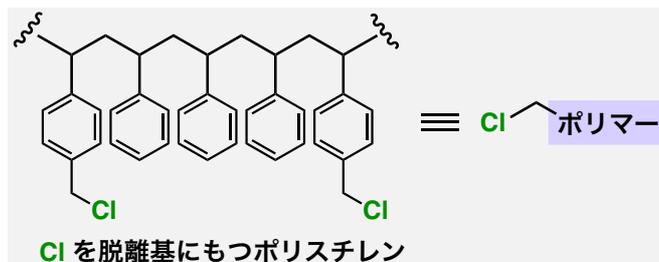
26-7：自動ペプチド合成 p1578

メリフィールド

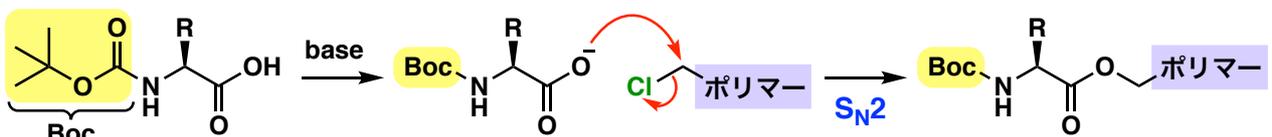
重要： Merrifield のペプチド固相合成法 → 「自動合成」も可能

合成法の概要：

- 一つ目のアミノ酸を不溶性ポリマー(ポリスチレン)に結合させる(=固定化)
- ここにアミノ酸を一つずつ順番に加えることで、連続したペプチド結合が生成する
- 試薬、不純物、副生成物はポリマー鎖に結合していないので、合成の各段階において溶媒で洗い流せば、簡単に除去できる



アミノ酸の固定化(担持)：



26-7 : Merrifield のペプチド固相合成法 p1578

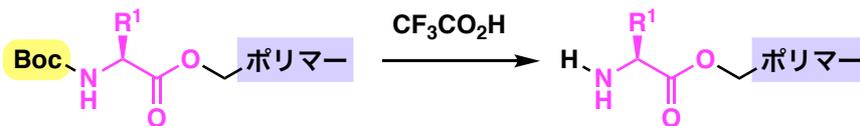
重要 : 合成手順(C末端→N末端の順、6段階)

段階1 : 保護されたC末端アミノ酸をポリマーに担持する

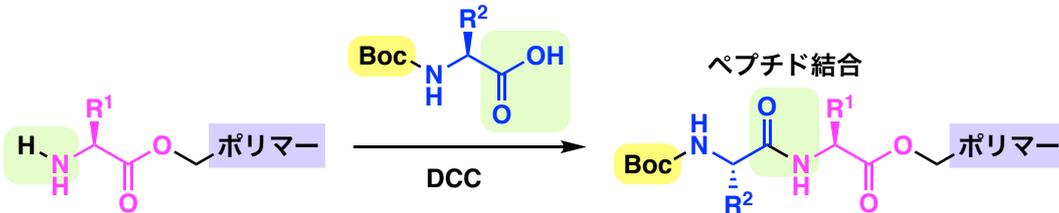


ポイント : ポリマーは最初のアミノ酸のC末端の保護基として機能する

段階2 : アミノ末端の脱保護

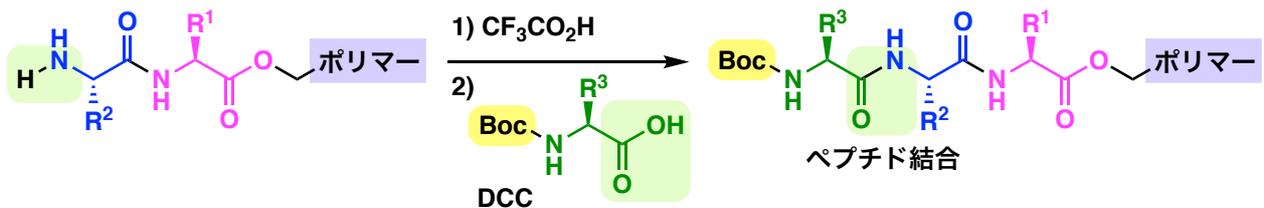


段階3 : 保護された2つ目のアミノ酸とペプチド結合を生成(縮合)

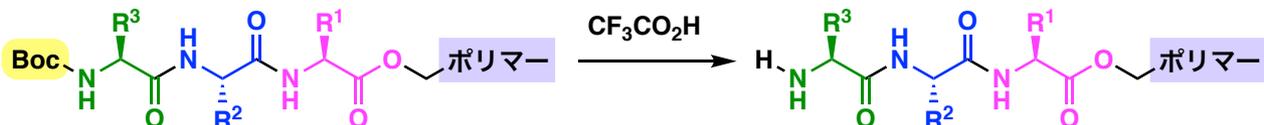


26-7 : Merrifield のペプチド固相合成法 p1578

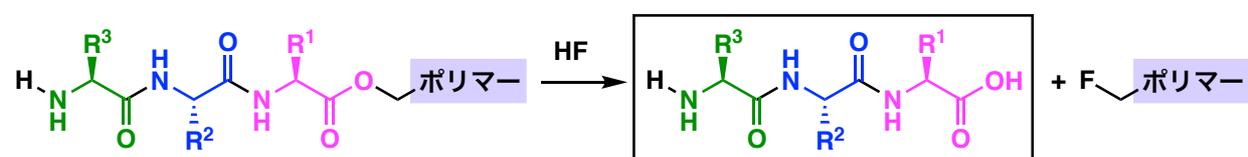
段階4 : 段階2と3を繰り返す、ペプチド鎖を伸ばす(伸長)



段階5 : アミノ末端の脱保護



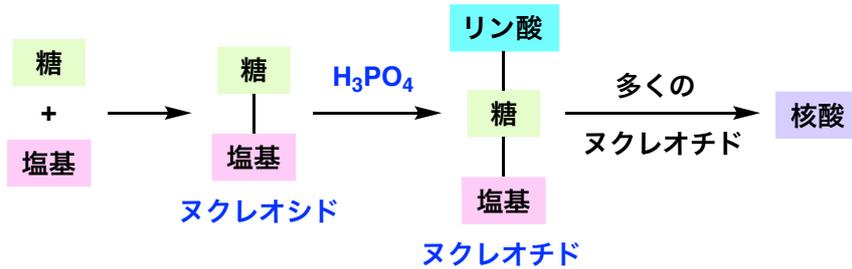
段階6 : ポリマーからペプチドを切り出す



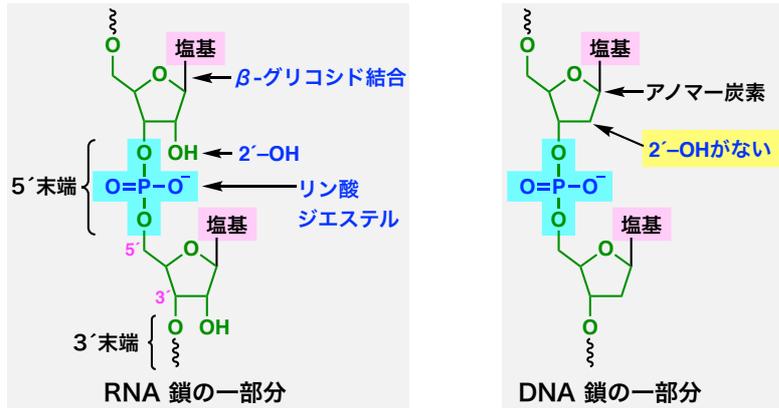
- 担持→脱保護→縮合→伸長(脱保護と縮合)→脱保護→切り出し
- 利点 : すべての中間体はポリマー上に固定化されているので、それらをろ過と洗浄だけで精製できる

26-9 : 核酸 p1582

核酸 : 5員環の糖がリン酸基によって結合した鎖状化合物
DNA(デオキシリボ核酸)と**RNA**(リボ核酸)が該当
 これらは細胞の遺伝情報を伝達する化学物質



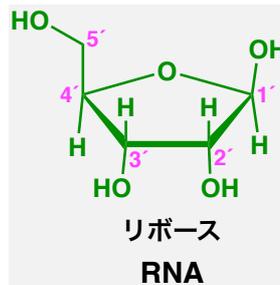
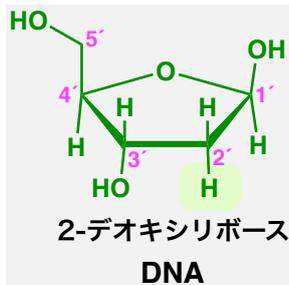
核酸の
 一般化した構造 :
 リン酸エステル部分
 でつながる



重要 : 26-9 核酸の糖と塩基 p1583

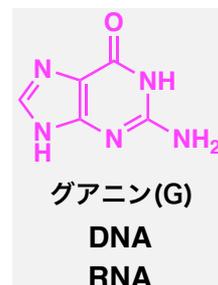
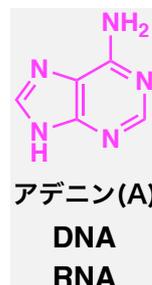
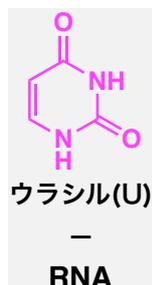
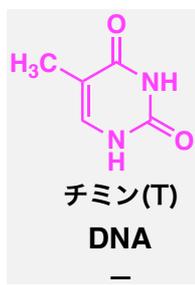
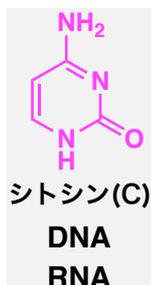
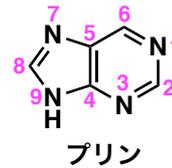
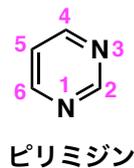
糖の構造

2-デオキシ
 = 2位酸素がない



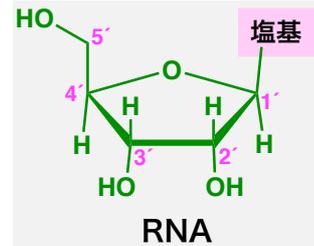
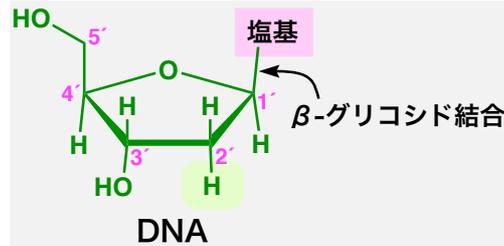
糖の位置番号には
 'をつける

塩基の構造 DNA, RNA 共に4つの異なる複素環塩基で構成

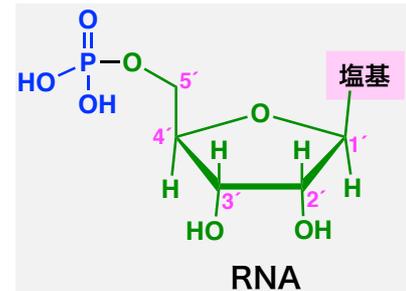
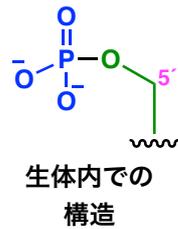
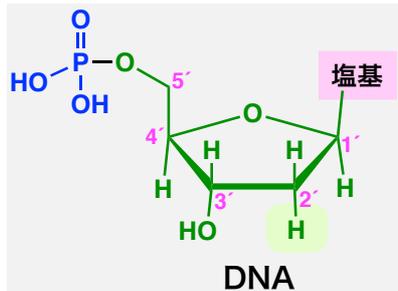


26-9 : ヌクレオシドとヌクレオチドの一般式 p1584

ヌクレオシド



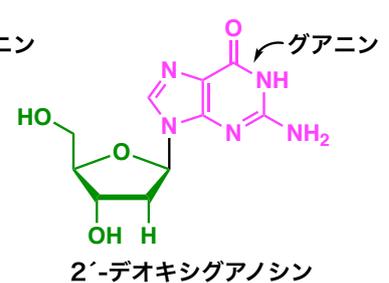
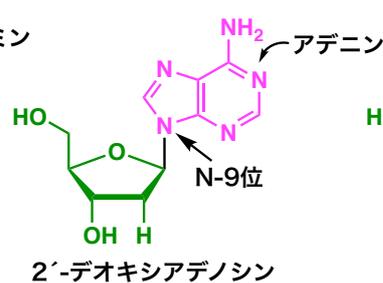
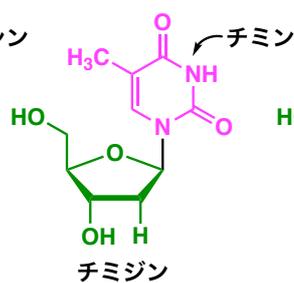
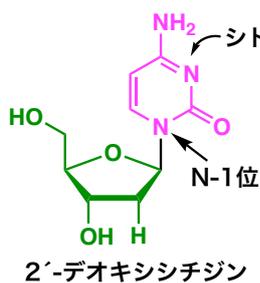
ヌクレオチド



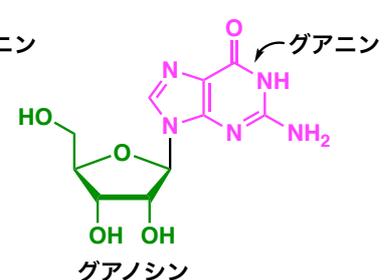
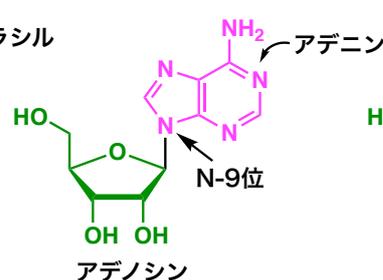
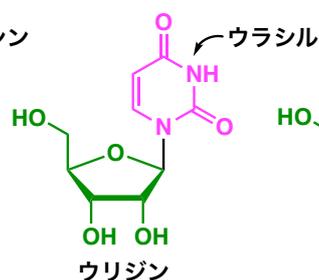
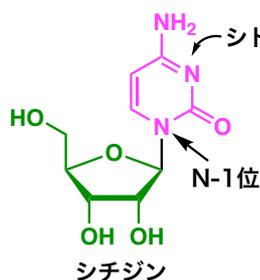
- リン酸基の結合する 5'-ヒドロキシ基側を **5'末端**
3'-ヒドロキシ基側を **3'末端**とよぶ
- 注意：2つの残されたリン酸OH基の pK_a は 2 と 7 であるから、
生理的 pH では 2 つともイオン化している

26-9 : DNA と RNA 中のヌクレオシド p1584

DNA中のヌクレオシド 合計4つ

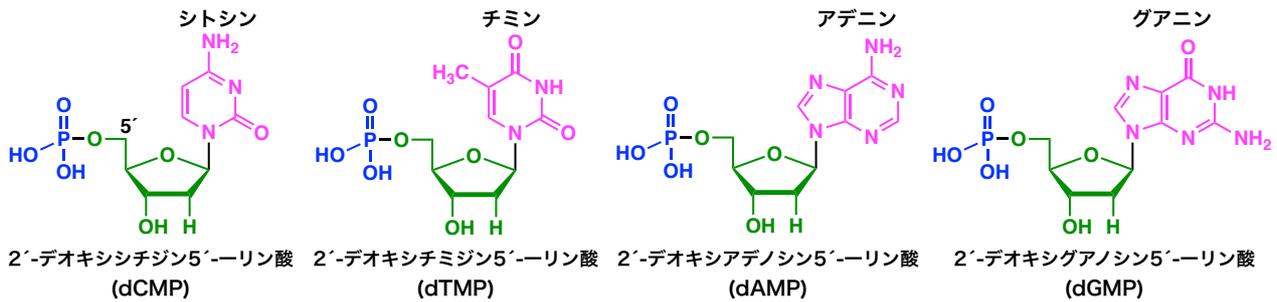


RNA中のヌクレオシド 合計4つ

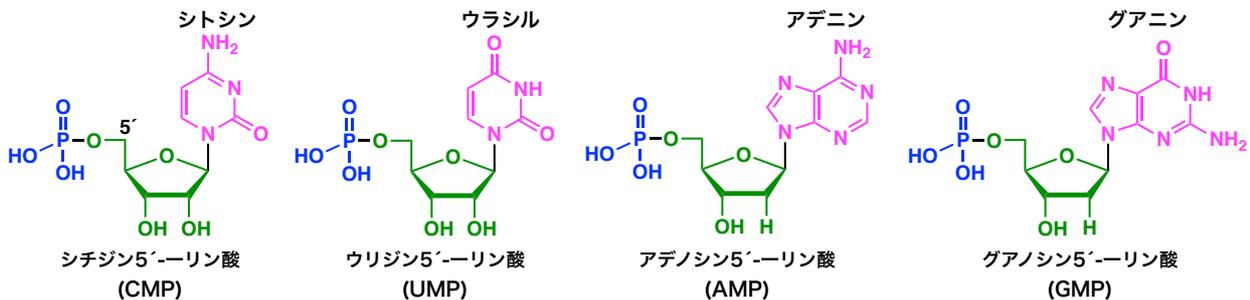


26-9 : ヌクレオチド p1584

DNA中のヌクレオチド 合計4つ(リン酸部分を非イオン構造で表す)



RNA中のヌクレオチド 合計4つ(リン酸部分を非イオン構造で表す)

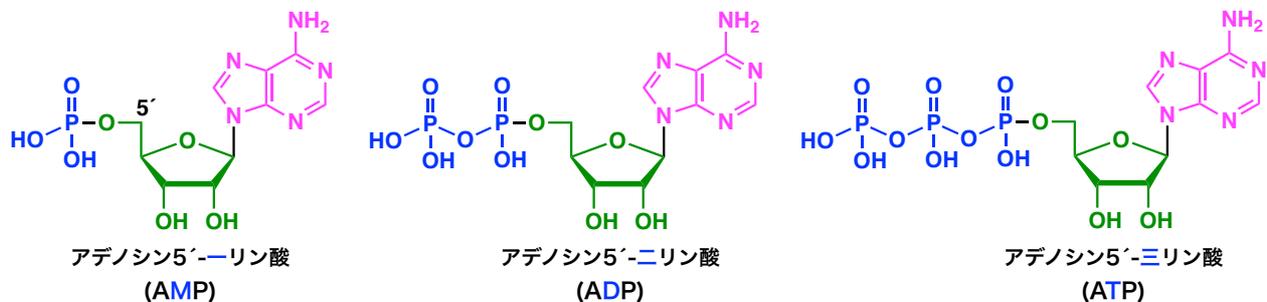


DNA中のヌクレオチドは、より正確には**デオキシリボヌクレオチド**と呼ばれ、RNA中のヌクレオチドは、**リボヌクレオチド**と呼ばれる

参考 : ヌクレオチドのリン酸部位 p1593

リン酸は無水物を生成できるので、ヌクレオチドは一リン酸、二リン酸、三リン酸として存在する。それらは、ヌクレオチドの名称に一リン酸、または二リン酸、または三リン酸をつけて呼ばれる。

例 : アデノシンのヌクレオチド



ヌクオチドの省略形名称 :

- A, G, C, T, Uに続いて MP(一リン酸), DP(二リン酸), TP(三リン酸)をつける
- 2'-デオキシリボースの場合は最初に小文字の d をつける