合成ポリペプチドの構造と物性

辻 田 義 治

1. 緒 言

天然高分子の一つであるコラーゲン、羊毛、絹などは、主鎖は全てペプチド結合からなっており、側鎖(-R)だけが異なった構造(-COCHRNH-)nを持っている。生体高分子の一種である蛋白質も同様に、ペプチド結合を持ち、側鎖だけが異なっている。すなわち蛋白質は20数種類のアミノ酸の規則的な配列から成るポリペプチドである。アミノ酸無水物の重合によるポリペプチドの合成法が確立されて以来、蛋白質のモデル物質として、ポリペプチドの構造と物性に関する研究が最近非常に盛んに行なわれている。

ポリペプチドの溶液状態、固体状態における2次構造と物性に関しては、研究が進み、すでにすぐれた成書^{1,2)}が出されている。

希薄溶液中におけるポリペプチドのコンホメーション、ヘリックス-コイル転移等の溶液物性に関しては、理論的かつ実験的にも非常に多くの研究があり1分野を形づくっているように思われる。最近では蛋白質のモデル物質としてのポリペプチドの溶液物性に関する研究成果が生体高分子の分子形態の研究に大いに役立ってきている。一方ポリペプチドの濃厚溶液や固体の構造と物性に関する研究は比較的歴史が新しい。

Robinson³⁾によってポリペプチドの濃厚溶液はコレステリック液晶を形成すると報告されて以来、最近までこの液晶については余り研究がなされないままであった。固体に関しては、約10年程前から構造と物性に関する研究が次第に多くなり現在に至っている。

ここではポリペプチド固体特に数多く研究されているポリ- α -ベンジル-L-グルタマート(PBLG)あるいはポリ- α -ベンジル-D-グルタマート(PBDG)、ポリ-

L-アスパラギン酸エステル固体の構造と物性の研究を概観してみたい。

固体の構造と物性の話しに入る前に、通常の高分子固体と違った特徴を持っていることを念頭に置かなければならないと思われる。すなわちポリペプチド固体は如何なる方法で調整しようとも、溶液状態から作成される。最もよく用いられるキャスト法は数%の溶液から溶媒を徐々に蒸発させてポリペプチド固体を作成する方法である。この場合最初の数%濃度では等方的な溶液であるが、 α ヘリックス分子同志がいろいろの様式で会合している場合が多い。さらに高濃度になると溶液は異方性となり、コレステリック液晶相を形成する。このようにキャストの各過程で会合状態や液晶状態をとっているので、ポリペプチドの固体構造にそれらの構造が反映されることが、通常の高分子固体と違った特徴である。従ってまず始めに溶液中での会合の問題や、コレステリック液晶の構造について簡単に触れてみよう。

2. 溶液中における分子形態と構造

ポリペプチドがとりうるコンホメーションとして良く知られているものとしては、ポリペプチドの主鎖が図1のようにラセン状の構造をとり、鎖中のCO、NH基間で分子内水素結合を作っている α ヘリックスや、主鎖が伸び切ったジグザグ構造をとり、CO、NH基間で分子間水素結合を作っている β 構造(図1)や、ランダムコイルの3種の2次構造がある。 α ヘリックスは通常、ヘリックス溶媒中で安定であるが、ジクロロ酢酸(Cl_2CHCOOH)、トリフルオロ酢酸(CF_3COOH)等のコイル溶媒中では転移して、ランダムコイルの形態をとる。このようにある適当な溶媒組成によって、ヘリックス-コイル転移が起こる。

側鎖の影響で α ヘリックスよりも、 β 構造が熱力学的に安定なもの、延伸によって α ヘリックスから β 構造に転移するもの、あるいはクロス β 構造をとるものなどあり、2次構造と物性との関連では興味ある問題であるが、ここでは α ヘリックスに限って話しを進めよう。

2.1 希薄溶液中における会合

The Structure and Properties of Synthetic Polypeptides

YOSHIHARU TSUJITA

Department of Fiber and Polymer Technology,

Nagoya Institute of Technology

名古屋工業大学工学部繊維高分子工学科 助教授(工博)

図1 ポリペプチドの α ヘリックスと逆平行 β 構造

ポリペプチドの主鎖末端付近のCO, NH基は α ヘリックス形成のための分子内水素結合には直接関与せずフリーな状態で存在している。このフリーなCO, NH基は別な分子の末端付近のそれぞれNH, CO基と分子間(末端間)水素結合を形成し、 α ヘリックス分子同志がほぼ直線的につながり会合体を作る。このタイプの会合をhead to tail 会合と言う。またポリペプチドの α ヘリックスは図1にあるように、ラセン1回転の中に3本の分子内水素結合がヘリックス軸方向に 100° 間隔で通っている。ところで $C=O$, NH基はそれぞれ双極子モーメントをもち $C=O \cdots NH$ の水素結合方向すなわちヘリックスラセン軸方向に、ポリペプチドの分子量に比例するけれども、非常に大きな数千デバイにもなる双極子モーメントを持っている^{4,5)}。この大きな双極子モーメントによる相互作用の結果として、逆平行のside by sideの会合が起こることが予想される。このように種々の会合の様式があるが基本となるものとしては、次の4つがある。

- ① head to tail 会合($\leftarrow \leftarrow$)
- ② head to head 会合($\rightarrow \leftarrow$)
- ③ 平行 side by side 会合($\parallel$)
- ④ 逆平行 side by side 会合(∇)

(なお $\rightarrow$ はヘリックス分子の方向を表わす)

実際には4つの会合様式は希薄溶液中での会合体の誘電分散、電気複屈折、粘弾性等の測定から決定されるはずであるが、現在ではこの4つが複雑に重なりあった会合をとっているものと考えられている⁶⁻⁹⁾。この分野で最もよく研究がなされているPBLGに関しては、クロロ

ホルム、塩化メチレン、ジクロロメタンなどの溶媒中ではPBLGは主に①のhead to tail 会合をしている。一方ベンゼンなどの比較的貧溶媒中では④のside by side 会合が主である^{8,7)}。このように両方共にヘリックス溶媒であるが、会合の様式は異なり、溶媒依存性がある。ここで非常に大まかな言い方をすれば、前者の溶媒系の濃厚溶液はコレステリック液晶を形成するが、後者の場合は液晶を形成しないか、非常に形成しにくく、むしろゲル化を起こす場合が多いようである。溶媒だけを考えてみても、ポリペプチド固体作成のさいのキャスト溶媒の種類によって、固体構造が変わることが示唆されるわけである。これについては後で述べるつもりである。

2.2 濃厚溶液中における液晶構造

ポリペプチド濃厚溶液が液晶構造をとるという最初の報告がなされたのは1950年、Elliott, Ambrose¹⁰⁾によってである。その後Robinson³⁾によって、液晶構造はコレステリック液晶であることが詳細に研究された。ここではその概要を述べて、ポリペプチドの液晶構造を簡単に眺めてみたいと思う。

ポリペプチドの希薄溶液は等方的であるが、濃厚になると球晶の複屈折相の液晶が出現する。この濃度を通常Aポイントと称す。さらに濃厚になると液晶相の分率が大きくなり1に近づき、最終的には全体が均一な複屈折性の液晶相となる。この濃度をBポイントと呼んでいる。すなわちBポイント以上の濃度では非常に大きな旋光度をもち、偏光顕微鏡観察による等間隔の縞模様をもったコレステリック液晶を形成する。

Robinson のポリペプチドの液晶研究と時を同じくして, Flory¹¹⁾ はポリペプチドなどの剛直な棒状分子と溶媒分子の系に格子模型を適用した溶液論を展開させた。このような棒状分子の溶液はちょうどマッチ棒を分散させたような系であり, 希薄溶液ではランダムな配置(無配向相)をとっているが, 濃度が増加するにつれてある程度平行に近い配列(複屈折溶液)が熱力学的に安定となり, 相分離が起こることを結論づけている。PBLG-塩化メチレン系のA, Bポイントの重合度依存性を偏光顕微鏡観察によって求め, Flory理論による理論曲線と比較したのが図2である¹²⁾。理論と実験結果は比較的良く一致しており, 理論の教えるところによれば, 複屈折相あるいは液晶相生成の原因としては, 幾何学的な配位エントロピーによって説明でき, ポリペプチドの棒状分子がより平行に近い配列をとっていることが結論づけられる。

コレステリック液晶のネジレ構造は図3に示すようにネジレ軸に垂直な面内では, ポリペプチド分子はネマチック液晶と同様に平行な配列をとっている。しかし次の面との間に一定のネジレ角を生じ, 次々にネジレて全体としてネジレ構造を呈している。前述のコレステリック液晶の縞模様は図3で分子が 180° ネジれた距離に等しく, コレステリックピッチの半分(半ピッチ)である。この半ピッチは偏光顕微鏡を用いて, 縞模様の間隔を観察することによって実測することが多い。コレステリック液晶のネジレ構造を特徴づける非常に重要な物理量はコレステリックピッチである。PBLG-ジオキサン系のピッチの濃度依存性を, 固体作成のさいのキャスト過程との関連で示したのが図4である。濃度が高くなるにつれ, すなわち固体に近づくにつれ, コレステリックピッチは

図3 ポリペプチドコレステリック液晶のネジレ構造のモデル

図4 PBLG-ジオキサン溶液の半ピッチ(S)と濃度の関係

図2 PBLG-ジオキサン溶液のAポイント, Bポイントの濃度と重合度(軸比)の関係(点線はFlory¹²⁾の理論曲線)

小さくなる。このようにキャスト過程でのコレステリックピッチの変化がポリペプチド固体構造に反映されるように思われる。図からもわかるが, ポリペプチド固体として予想されるコレステリックピッチは 1μ 以下となり, 偏光顕微鏡の分解能以下となり, 観察できないけれども, その他の例えば円偏光二色性の選択反射の測定を行えばピッチが求められる。事実立花ら¹³⁾はポリ- α -メチルグルタマート固体のピッチを求め, コレステリックカラーとの関係を論じ, 固体中にコレステリック液晶相の存在を確認している。

3. 合成ポリペプチド固体の構造と物性

ここ10年程の間にポリペプチド固体に関する研究報告が非常に多くなり, 高次構造とその物性に興味注がれているように思われる。一概にポリペプチド固体と言っても通常の高分子固体とは違って, 前にも述べたようにキャスト過程の影響が大きく, 非常に複雑な構造をとっている。中でも良く研究されているPBLGやポリ-L-

アスパラギン酸エステルに関するいくつかの研究例を紹介する。

3.1 ポリペプチドの側鎖分散

ポリペプチドの粘弾性の温度分散は大きく分けて、室温付近の分散いわゆる側鎖分散と、100～200℃に観測される高温側の分散、-100℃以下に現われる側鎖の局所的運動に対応する分散に分けられる。この節では側鎖分散についてだけ述べる(図7参照)。側鎖分散に関連して、比容-温度曲線で見掛け上2次転移の挙動を示す^{14, 16)}。同様に比熱のジャンプ¹⁶⁾や定常状態透過係数、定常状態拡散係数のアレニウスプロットで屈曲を示し¹⁷⁾、無定形高分子のガラス転移と類似の挙動を示す。動的な測定では剛性率 G' 、損失剛性率 G'' 、 $\tan \delta$ のマスターカーブ¹⁸⁾や誘電率 ϵ' 、誘電損失 ϵ'' のマスターカーブ¹⁹⁾からシフトファクターの温度依存性を示すとWLF曲線に良く一致する。このようにポリペプチドの側鎖分散の特徴は通常高分子のガラス転移に関連した種々の取扱いが適用できることである。

側鎖分散温度以上では側鎖の片端は常にヘリックス主鎖C α 炭素に結合しているけれども、側鎖全体のブラウン運動を起こしていると考えられている。側鎖の一次構造と側鎖分散に関する植松ら²⁰⁾の研究によると、ポリアルキル-L-グルタメートの側鎖分散温度(周波数110Hz)とn-アルキル基の炭素数の関係は図5のようになり、ポリアルキルメタクリレートの場合(炭素数に余り依存しない)とは全く異った挙動を示している。すなわちポリアルキル-L-グルタメートは剛直な α -ヘリックスの骨格と側鎖部分からできているが、側鎖分散の帰属を主鎖の運動と独立な側鎖全体のブラウン運動と考えると、側鎖分散温度が側鎖のn-アルキル基の炭素数に大きく依存することは妥当な結果である。以上のようにポリペプチドの側鎖分散は α -ヘリックス骨格とは全く独立した側

鎖のブラウン運動と帰属でき、通常の高分子のガラス転移と同様の取扱いが可能である。

3.2 ポリ- γ -ベンジル-L-グルタメートの固体変態

PBLG固体の構造と物性は試料作成のさいのキャスト条件の違いによって、種々の構造の異なった固体変態が得られることがMcKinnon, Tobolsky^{14, 21)}、植松ら^{22, 23)}によって報告された。McKinnon, Tobolsky、植松らの研究をまとめてみると、キャスト温度に関してはジメチルホルムアミド(DMF)、ベンゼン、テトラヒドロフラン(THF)、ベンジルアルコール等のキャスト溶媒で40℃以下のキャスト温度ではform Aが作成され、60℃以上のキャスト温度ではform Bの変態が生成される。一方塩化メチレン、クロロホルム、二塩化エタン等の溶液からキャストするとform Cと呼ばれる固体変態を作る(固体変態の命名についてはMcKinnon, Tobolskyによった)。図6にはMcKinnon, Tobolskyのズリ弾性率-温度曲線の結果を示した。両結果からわかるようにform Aは弾性率が高く、室温付近と135℃付近の弾性率の低下が特徴的で、form Bは同様に室温付近と95℃付近に弾性率の低下があり、form Cでは室温付近だけで弾性率の低下があり、高温になっても余り弾性率が低下しない。各固体変態の室温付近の弾性率の低下は図7の $\tan \delta$ 曲線の40℃と50℃の分散と対応し、それぞれform C, form Aの側鎖分散である。分散のピーク温度、形の違いから側鎖の分子運動、従って側鎖の構造が異なっていることが示唆されている。なお主鎖の骨格については α -ヘリックスであることが確認されている²²⁾。

form Aの構造はElliottら^{24, 25)}がPBLG濃厚溶液の“complex phase”に提案しているモデルによって説明される。それは図8のように α -ヘリックス分子が2次元

図5 ポリアルキル-L-グルタメートの側鎖分散温度とn-アルキル基の炭素数の関係

図6 PBLG form A, B, Cの3Gと温度の関係(G: 10⁻⁹ sec ズリ弾性率)

図7 種々の溶媒からキャストされたPBLGフィルムの温度の関数としての弾性率 E' と $\tan \delta$: THF(▲), ベンゼン(△), クロロホルム(○), 二塩化エタン(●), 塩化メチレン(⊕)

図8 PBLG "complex phase" の単位格子

六方晶格子を作り、 α ヘリックス分子内でベンゼン環のスタッキングによって55Åの長周期をもつベンゼン環のstackができ、この両端のベンゼン環が隣り合った分子のベンゼン環とすなわち分子間でスタッキングし、より大きな長周期(330Å)を持った側鎖の擬ヘリックスを形成する"complex phase"モデルである。このモデルによる側鎖のベンゼン環のスタッキングによってform Aの弾性率が高くなり、135°C付近でスタッキングの崩壊により弾性率が急激に低下しているわけである。form Bの構造はMcKinnon, Tobolsky²¹⁾によって明らかにされ、それによると単位格子は擬六方晶であるが、約95°Cで正六方晶に転移する。この転移がform Bの95°C付近の弾性率の低下と関係があるとしている。一方form Cの単位格子は $a=b=15.19\text{Å}$, $\gamma=124^\circ$ の三斜晶系である¹⁾。form B, form Cともform Aのようなベンゼン環のスタッキングが存在せず、パッキングの違いがあるだけである。前述の構造の転移に対応したその他の物性的特徴としてはform Aは約135°CにDSCあるいはDTAサー

モグラムに吸熱ピークを持ちまた比容-温度曲線(図9)において1次転移を示すことである。またform Bは約100°Cに比容-温度曲線で屈曲を生ずるがこれは擬六方晶系から正六方晶系への転移に対応するのだろう。

その他の条件で作成したPBLGの構造と物性に関して、興味深いものの一つとしてPBLGの沈殿物が挙げられる。すなわちPBLGをDMFに溶かし、4倍量のプロピオン酸を加えた高温(140°C)の溶液を室温まで徐冷したり、あるいは等温に保ったとき出来る沈殿物は石川ら²⁶⁾や立花ら²⁷⁾のスーパーヘリックスと同様の図10のような電子顕微鏡写真を示し、スーパーヘリックスであることが確認できた。沈殿物は物性的にはform Aと同様135°Cに吸熱ピークを持ち、比容-温度曲線で一次転移

図9 PBLG form A, Bの比容-温度曲線: form A (○), form B (●)

図10 PBLG沈殿物の電子顕微鏡写真

を示し、form A の物性と同様の傾向を持っている²⁸⁾。構造的にも form A に対する前述の“complex phase”モデルで解釈できるX線回折パターンを示している²⁸⁾。

以上要するにキャスト温度、キャスト溶媒、沈殿の条件によって、側鎖の構造(特にスタッキング等)が異なった結果、主鎖の α ヘリックスのパッキングが違い種々の固体変態が生成されるのである。

3.3 ポリ- γ -ベンジルグルタメートラセミ体の一次転移

ポリ- γ -ベンジルグルタメート(PBG)ラセミ体の一次転移の話しに入る前に、ラセミ体の構造について考えてみる。PBGラセミ体(PBLG:PBDG=1:1混合物)とPBLGあるいはPBDGのX線回折写真を比較すると、前者の子午線付近の回折は後者の回折とはずれ、10.6 Åと5.0 Åに相当する回折が新たに現われる^{28~32)}。以上のような事実から坪井らとElliottらはPBGラセミ体では隣接するL残基鎖の末端ベンゼン環とD残基鎖のベンゼン環同志の強い相互作用のためにスタッキングを起こし、側鎖末端のベンゼン環が10.6 Åのピッチを持つ規則的な配列をとっていると結論した。この側鎖のベンゼン環の強い相互作用の結果、主鎖のコホメーションは通常の18残基5回転の α ヘリックス構造から少し歪み、43残基12回転のdistorted α helix となる。

この側鎖の規則的な構造は95°Cで転移することが既に報告されているが、転移のさいの物性値の変化を数例紹介する³³⁾。まず最初に赤外吸収スペクトルの研究によると、側鎖末端のベンゼン環のスタッキングに関係するとされている1360 cm^{-1} の吸収ピークが図11にあるように転移温度(95°C)以上において消失し、ベンゼン環の規則的なスタッキングが崩壊していることがわかる。なおAmideバンドの検討から主鎖の骨格は転移温度以上でも変わらず α ヘリックスをとっていることがわかる。PBGラセミ体に特有な95°Cの転移は図12にあるように比容-温度曲線に一次転移の挙動を示し可逆的である。

図11 PBGラセミ体の種々の温度での赤外吸収スペクトル: 30°C(—), 80°C(---), 110°C(……)

図12 PBLG-PBDG混合物の比容-温度曲線: 上の曲線から下の曲線へそれぞれPBLG:PBDG = 9:1, 7:3, 1:1; 加熱曲線(○), 冷却曲線(●)

図13 種々の温度でのアブラミプロット(実線はアブラミ式による $n=4$ に対応する理論曲線)

また図12には参考までにPBDGの分率が50%より小さい場合の比容-温度曲線も示してある。転移温度は分率が小さくなるにつれ、低温側へシフトしている。これについては現在研究が進められているところである。

転移あるいはスタッキングの機構を明らかにする目的で動力学的研究が行なわれた³³⁾。95°C以上の温度から一定温度に冷却した時の比容の時間変化が図13に示してある。 $n=4$ の等温曲線はアブラミ式で $n=4$ としたときの理論曲線であり、各温度での実験結果は $n=4$ の理論曲線によく合う。この結果はAvrami理論によればPBGラセミ体の側鎖ベンゼン環のスタッキング形成が3次元的核生長であることを教えるものである。

3.4 ポリ-L-アスパラギン酸エステルの α - ω 転移

3.4.1 ポリ- β -ベンジル-L-アスパラテート(PBLAsp)

PBLAspはPBLGに比べて側鎖長がメチレン基1個分だけ短かく側鎖の中程にあるカルボニル基がメチレン基1個を隔てて主鎖のC α 炭素と近接している。言い換えれば側鎖のカルボニル基が主鎖の α ヘリックス骨格に分子内相互作用を及ぼし易くなっている。すなわち主鎖中のアミド基と側鎖のカルボニル基が競合的に水素結合

を形成し、それぞれ主鎖の α ヘリックスは水素結合が完全ではなく不安定となっている。この考え方はPBLAspに限らずポリ-L-アスパラギン酸エステル、L-アスパラギン酸エステルの共重合体に共通して適用できる。本節での本質的な問題はこの α ヘリックスの不安定性が主因である。

通常L体のポリペプチドは右巻きの α ヘリックスを形成するが、PBLAspは例外で左巻きの α ヘリックスを作る³⁴⁾。しかしながらPBLAspは本来不安定なヘリックスであるので、PBLAspの α ヘリックスの熱処理によって容易に4残基1回転の ω ヘリックスに転移することがBradburyら³⁶⁾によって初めて報告された。また最近キャスト条件を変えることによりPBLAspの ω ヘリックスが得られている。すなわちキャスト速度を遅くしたり³⁶⁾、50℃以上のキャスト温度の場合³⁷⁾である。しかしながら現在のところ溶液中では ω ヘリックスは見出されおらず、左巻き α ヘリックスが安定であると言える。以上の結果からPBLAspは熱力学的には溶液中では左巻き α ヘリックスが、固体では左巻き ω ヘリックスが最も安定であると言える。事実Scheragaら^{38, 39)}のコンホメーションのエネルギー計算によるとPBLAspは孤立鎖では左巻き α ヘリックスが安定であるが、固体では分子間相互作用のため左巻き ω ヘリックスが安定であることが結論づけられている。あるいはBradburyら⁴⁰⁾によると α ヘリックスにおいてヘリックス主鎖アミド基と側鎖カルボニル基との分子内相互作用によって右巻き α ヘリックスとなり得ず、不安定な左巻き α ヘリックスであったものが側鎖末端のベンゼン環の1番目と5番目が分子内 van der Waals 相互作用によってスタッキングし、ヘリックスが歪んで、より安定な ω ヘリックスを形成すると解釈することもできる。前述したようにPBLAspの α ヘリックスを熱処理すると ω ヘリックスになるが、このさい同時に六方晶系の α ヘリックスから正方晶系の ω ヘリックスへの転移が起こっている。図14は α ヘリックス(加熱曲線)と ω ヘリックス(冷却曲線)の比容-温度曲線であり、 $\alpha \rightarrow \omega$ 転移のさいに比容の減少すなわち密度の増加が観察される³⁷⁾。同様な現象として熱的には $\alpha \rightarrow \omega$ 転移は発熱ピークとしてあらわれる⁴¹⁾。

PBLAspの側鎖のカルボニル基と主鎖ヘリックスのアミド基の相互作用により、前述したようにヘリックスは不安定になるが、側鎖特にカルボニル基は逆にかなり剛くなると思われる。PBLAspの α 、 ω ヘリックスの側鎖の分子運動(側鎖分散)は、そういうわけでPBLGなどと比べて複雑である。筆者ら⁴²⁾のPBLAspの α 、 ω ヘリックスの誘電損失 ϵ'' が0.05程度で非常に小さく、PBLAspの α 、 ω ヘリックスの側鎖分散あるいは分子

図14 PBLAspの α ヘリックス、 ω ヘリックスの比容-温度曲線：加熱曲線(○)，冷却曲線(●)

運動がかなり制限を受けていることがわかる。事実誘電緩和強度も非常に小さく、PBLGのその1/2~1/3ほどである。

α と ω ヘリックスでは側鎖分散の活性化エネルギーは13~14 kcal/molではほぼ等しく、緩和強度は α ヘリックスが幾分大きい。一方1 kHzにおける側鎖分散温度は ω ヘリックスが低い。すなわち ω ヘリックスの側鎖はより低い温度で動き始めていることになる。

Happeyら⁴³⁾はNMRの2次モーメントの研究により誘電的研究と同じ結論を導いている。 ω ヘリックスでは側鎖のベンゼン環はスタッキングしており、その距離は5.3 Åでベンゼン環の van der Waals 厚み3.4 Åより大きいので回転可能である。一方 α ヘリックスでは δ Oと ϵ CH₂によって回転が邪魔されるので動きにくい。従って ω ヘリックスの方が約20℃低温で運動し始める。

3.4.2 n-アルキル-L-アスパラテート-ベンジル-L-アスパラテート共重合体

Scheraga らは多くのポリペプチドの真空中における孤立鎖のコンホメーションのエネルギー計算をして、エネルギー的に最も安定な構造を求めている。ポリアスパラギン酸エステルについては、ポリメチル-L-アスパラテート(PMLAsp)、ポリエチル-L-アスパラテート(PELAsp)、PBLAspは左巻き α ヘリックスが、ポリ-n-プロピル-L-アスパラテート(PnProLAsp)；ポリ-iso-プロピル-L-アスパラテート(PisoProLAsp)は右巻き α ヘリックスがエネルギー的に安定な構造となる^{38, 44, 45)}。PELAspだけが実験と一致しないが、これは孤立鎖だけの考慮では不十分で分子間相互作用を考え

ていないからであろう。Bradburyらの研究によると^{40,46)}、Scheragaらの結果と同じで、PMLAsp, PBLAspが左巻き α ヘリックスであり、PELAsp, PnProLAsp, ポリブチル-L-アスパラテート(PBuLAsp)が右巻き α ヘリックスである。またベンジル-L-アスパラテート-エチル-L-アスパラテート(51:49)共重合体はクロロホルム溶液中で、低温で右巻き α ヘリックスであるが、高温で左巻き α ヘリックスとなり、約35℃でヘリックスセンスの可逆的な熱転移を起す。アスパラギン酸エステル共重合体についてのコンホメーションの研究は余りない。著者ら⁴⁷⁾の行なった共重合体の固体の粘弾性的研究例を紹介する。

アスパラギン酸エステル共重合体は一般的には、高重合度試料が得られているPBLAspの側鎖ベンジル基のエステル交換反応を利用して得られる。この反応の利点はPBLAspの重合度がそのまま共重合体の重合度になり、重合度の低下が余りないこと、もう一つは反応時間を適当に調節することで任意の組成の共重合体を得られることである。

まず最初にn-ブチル-L-アスパラテート(BuLAsp)-ベンジル-L-アスパラテート(BLAsp)共重合体の固体薄膜の赤外吸収スペクトルの結果によると、BuLAspが約20%以下のときは左巻き α ヘリックスで、約30%以上では右巻き α ヘリックスである。また140℃で熱処理をすると、全ての組成の共重合体はPBLAspと同様に左巻き ω ヘリックスに転移している⁴⁸⁾。すなわち熱処理によってBuLAspが20%以下の共重合体は左巻き α ヘリックスから左巻き ω ヘリックスへ、一方30%以上の共重合体は右巻き α ヘリックスから左巻き ω ヘリックスへ、ヘリックスセンスの逆転を伴って α - ω 転移が起こっている。共重合体の弾性率 E' と $\tan \delta$ の温度変化を、DTAサーモグラムをそれぞれ図15、図16に示す。約100℃における左巻き α ヘリックスから左巻き ω ヘリックスへの α - ω 転移のさいに E' は幾分増加し、熱的には発熱ピークを示している。一方右巻き α ヘリックスから左巻き ω ヘリックスへの α - ω 転移はBuLAspの組成により異なるが、130~140℃で起こり、図15のように弾性率は急激に低下し、引き続き急激な増加が認められる。熱的にはヘリックスセンスの逆転を伴わない α - ω 転移の発熱ピーク(約0.3 kcal/mol)に比べて、非常に大きな発熱ピーク(約1.5 kcal/mol)が現われている。これはヘリックス分子の α - ω 転移、ヘリックスセンスの右巻きから左巻きへの転移、六方晶系から正方晶系への転移が同時に起こっているからである。 ω ヘリックス形成にはベンゼン環のスタッキングが必要であるが、ベンジル基とブチル基の長さがほぼ同じであるため、ベン

図15 ブチル-L-アスパラテート-ベンジル-L-アスパラテート共重合体の弾性率 E' と $\tan \delta$ の温度変化: PBLAsp(—), Bu 21(-----), Bu 69(.....)

図16 ブチル-L-アスパラテート-ベンジル-L-アスパラテート共重合体のDTAサーモグラム

ジル基とブチル基との間にスタッキングに類似した構造が可能であるのだろう。BuLAsp%がさらに多くなったときには、ブチル基-ブチル基間のスタッキングが形成され ω ヘリックスとなることが予想される。

エチル-L-アスパラテート(ELAsp)-ベンジル-L-アスパラテート共重合体の場合には、ELAsp 20%位までは左巻き α ヘリックスから左巻き ω ヘリックスへの転移は可能であるが、30%以上ではベンジル基の部分だけでスタッキングが形成され、 ω ヘリックスとなり、エチル基とベンジル基間のスタッキングは起こらず、エチル基の部分は α ヘリックスのまま、結局 α 、 ω ヘリックスの混在した状態となる⁴⁷⁾。アルキル-L-アスパラテート-ベンジル-L-アスパラテート共重合体も同様の結果を示すと思われる。前述したようにPBLAspのヘリックスは α 、 ω ヘリックスとも不安定である、そのあらわれとして β 構造への転移が図16にあるように180℃付近に観測される。 α ヘリックスが非常に安定なポリダ

ルタミン酸エステルは延伸等の外力によってしか β 構造にならず、熱転移は全く示さない。BuLAsp-BLAsp共重合体の場合はBuLAsp%が増えるにつれ、ベンジル基間のスタッキングが少なくなり、 ω ヘリックスは不安定となる。従って結果としても ω - β 転移温度がBuLAsp%とともに低温側へシフトしている。

L-アスパラギン酸エステル共重合体についてまとめると、ベンジル基とスタッキング出来るアルキル基をもつ共重合体は全組成で α - ω 転移が可能である。アルキル基によってヘリックスセンスの逆転を伴う場合がある(ブチル基)。一方ベンジル基とスタッキング出来ないアルキル基をもつ共重合体の場合はベンジル基の部分だけ α - ω 転移をし、アルキル基の部分は α ヘリックスのまま転移しない。

180℃付近に α - β あるいは ω - β 転移が全てのL-アスパラギン酸エステル共重合体に観察される。

以上ポリペプチド固体の構造と物性について簡単に紹介したが、ポリペプチド固体について、作成条件により種々の構造と物性の違いがあることがわかった。ポリグルタミン酸エステルの場合は主鎖は非常に剛直なヘリックスであり、作成条件によりほとんど変化をうけない。一方側鎖はその影響を受け易く、キャスト溶媒、キャスト温度などで側鎖のコンホメーションが異なる(例えば側鎖のベンゼン環同志のスタッキング)。結局側鎖の構造の違いによって、ヘリックスのパッキングに相違を生じ、種々の固体変態が形成される。側鎖ベンゼン環のスタッキングの崩壊による一次転移が観測され(PBLG form A, PBGLラセミ体)、スタッキング形成の機構も明らかにされた。

ポリ-L-アスパラギン酸エステル、L-アスパラギン酸エステル共重合体はヘリックスそのものが本来不安定である。主鎖の α ヘリックスのヘリックスセンス、 ω ヘリックスに対する側鎖の影響が調べられ、側鎖によって種々の構造転移を起こすことがわかった。合成ポリペプチドの種々の機能を考えると、以上のようにポリペプチドの側鎖の役割、構造、分子運動などが今後さらに明らかにされることだろう。

文 献

- 1) C. H. Bamford, A. Elliott, W. E. Hanby; "Synthetic Polypeptides", Academic Press, N.Y., 1956
- 2) G. D. Fasman; "Poly- α -Amino Acids" Marcel Dekker, Inc., N.Y., 1967
- 3) C. Robinson; *Trans. Far. Soc.*, **52**, 571 (1956), C. Robinson, J. C. Ward, R. B. Beevers; *Disc. Far. Soc.*, **25**, 29 (1958)
- 4) A. Wada; *Bull. Chem. Soc. Japan*, **33**, 822 (1960)
- 5) M. Sharp; *J. Chem. Soc. (A)*, 1596 (1970)
- 6) A. Wada; *J. Polym. Sci.*, **45**, 145 (1960)
- 7) H. Watanabe; *Nippon Kagaku Zasshi*, **86**, 179 (1965)
- 8) A. K. Gupta, C. Dufor, E. Marchal; *Biopolymers*, **13**, 1293 (1974)
- 9) E. Marchal; *ibid.*, **13**, 1309 (1974)
- 10) A. Elliott, E. J. Ambrose; *Disc. Far. Soc.*, **9**, 246 (1950)
- 11) P. J. Flory; *Proc. Roy. Soc. (London)*, **A234**, 73 (1956)
- 12) P. J. Flory; *J. Polym. Sci.*, **49**, 105 (1961)
- 13) T. Tachibana, E. Oda; *Bull. Chem. Soc. Japan*, **46**, 2583 (1973)
- 14) A. J. McKinnon, A. V. Tobolsky; *J. Phys. Chem.*, **70**, 1453 (1966)
- 15) A. Tsutsumi, S. Isozaki, K. Hikichi, M. Kaneko; *Repts. Progr. Polym. Phys. Japan*, **16**, 591 (1973)
- 16) G. Pezzin, G. Ceccorulli, M. Pizzoli, E. Peggion; *Macromolecules*, **8**, 762 (1975)
- 17) Y. Oohachi, H. Hamano, T. Yoshida, Y. Tsujita, A. Takizawa; submitted to *J. Appl. Polym. Sci.*
- 18) Y. Yamashita, A. Tsutsumi, K. Hikichi, M. Kaneko; *Repts. Progr. Polym. Phys. Japan*, **15**, 607 (1972)
- 19) A. Tsutsumi, K. Hikichi, T. Takahashi, Y. Yamashita, N. Matsushima, M. Kaneko, M. Kaneko; *J. Macromol. Sci.*, **B8**, 413 (1973)
- 20) Y. Yokomori, Y. Uematsu, I. Uematsu; *Repts. Progr. Polym. Phys. Japan*, **15**, 633 (1972)
- 21) A. J. McKinnon, A. V. Tobolsky; *J. Phys. Chem.*, **72**, 1157 (1968)
- 22) T. Fukuzawa, I. Uematsu, Y. Uematsu; *Polymer J.*, **6**, 431 (1974)
- 23) T. Watanabe, Y. Tsujita, I. Uematsu; *ibid.*, **7**, 181 (1975)
- 24) D. A. D. Parry, A. Elliott; *J. Mol. Biol.*, **25**, 1 (1967)
- 25) J. M. Squire, A. Elliott; *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **7**, 457 (1969)
- 26) S. Ishikawa, T. Kurita; *Biopolymers*, **2**, 381 (1964)
- 27) T. Tachibana, H. Kambara; *Kolloid Z. Z. Polym.*, **219**, 40 (1967)
- 28) T. Aritake, Y. Tsujita, I. Uematsu; *Polymer J.*, **7**, 21 (1975)
- 29) M. Tsuboi, A. Wada, N. Nagashima; *J. Mol. Biol.*, **3**, 705 (1961)
- 30) A. Elliott, R. D. B. Fraser, T. P. MacRae; *ibid.*, **11**, 821 (1965)
- 31) Y. Mitsui, Y. Iitaka, M. Tsuboi; *ibid.*, **24**, 15 (1967)
- 32) J. M. Squire, A. Elliott; *ibid.*, **65**, 291 (1972)
- 33) M. Yoshikawa, Y. Tsujita, I. Uematsu; *Polymer J.*, **7**, 96 (1975)
- 34) E. M. Bradbury, A. R. Downie, A. Elliott, W. E. Hanby; *Proc. Roy. Soc.; Ser. A*, **259**, 110 (1960)
- 35) E. M. Bradbury, L. Brown, A. R. Downie, A. Elliott, R. D. B. Fraser, W. E. Hanby; *J. Mol. Biol.*, **5**, 230 (1962)
- 36) H. Obata, H. Kanetsuna; *J. Polym. Sci., A-2*, **9**, 1977 (1971)
- 37) M. Fukagawa, Y. Tsujita, I. Uematsu; unpublished data
- 38) J. F. Yan, G. Vanderkooi, H. A. Scheraga; *J. Chem. Phys.*, **49**, 2713 (1968)
- 39) R. F. McGuire, G. Vanderkooi, F. A. Momany, R. T. Ingwall, G. M. Crippen, N. Lotan, R. W. Tuttle, K. L. Kashuba, H. A. Scheraga; *Macromolecules*, **4**, 112 (1971)

- 40) E. M. Bradbury, B. G. Carpenter, R. M. Stephens; *Biopolymers*, 6, 905 (1968)
- 41) D. B. Green, F. Happey, B. M. Watson; *Europ. Polym. J.*, 6, 7 (1970)
- 42) Y. Tsujita, I. Uematsu; *Polymer J.*, 6, 274 (1974)
- 43) F. Happey, D. W. Jones, B. M. Watson; *Biopolymers*, 10, 2039 (1971)
- 44) T. Ooi, R. A. Scott, G. Vanderkooi, H. A. Scheraga; *J. Chem. Phys.*, 46, 4410 (1967)
- 45) J. F. Yan, F. A. Momany, H. A. Scheraga; *J. Amer. Chem. Soc.*, 92, 1109 (1970)
- 46) E. M. Bradbury, B. G. Carpenter, H. Goldman; *Biopolymers*, 6, 837 (1968)
- 47) M. Fukagawa, Y. Tsujita, I. Uematsu; *Repts. Progr. Polym. Phys. Japan*, 17, 611 (1974)
- 48) M. Fukagawa, Y. Tsujita, I. Uematsu; submitted to *Polymer J.*

(昭和51年9月10日受理)

化学抄報

KAGAKU SHOHO

最新の化学情報を 手早く知るには!!

日本で発行されている化学関係主要誌約90誌の抄録を集め、*Chemical Abstracts*の80分類に従った分類索引をつけ、毎月2回速報します。

読者は、所属する専門分野の報文を選んで、内容の要点を知ることができます。「化学総覧」が遡及調査用であるのに対し、「化学抄報」は、現状追従調査用資料です。購読には下記へ申込書を請求して下さい。

化学情報協議会は、27学協会を中心に設立された団体で、化学情報の円滑な流通を目的としています。

抄報誌は、月2回、各冊平均130ページ、年24冊発行です。

購読料は、年間36,000円(送料共)で、加盟学協会所属の団体会員は30,000円、個人会員(自宅宛送本に限る)は18,000円に割引の制度があります。

(会員入会申込先)

〒113 東京都文京区弥生2-4-16 学会センタービル内 Tel 03(815)1903

(事務局)

〒101 東京都千代田区神田駿河台1-5 (社)日本化学会気付 Tel 03(292)6161

社団法人 化学情報協議会