

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 学 術 ）	氏名	益田 恵子															
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当																	
<p>論 文 題 目</p> <p>新規視床下部分泌性小タンパク質の合成法の確立</p>																		
<p>論文審査担当者</p> <table border="0"> <tr> <td>主 査</td> <td>教授</td> <td>浮穴 和義</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>教授</td> <td>斎藤 祐見子</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>教授</td> <td>古川 康雄</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>教授</td> <td>山崎 昌廣</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>教授</td> <td>石田 敦彦</td> </tr> </table>				主 査	教授	浮穴 和義	審査委員	教授	斎藤 祐見子	審査委員	教授	古川 康雄	審査委員	教授	山崎 昌廣	審査委員	教授	石田 敦彦
主 査	教授	浮穴 和義																
審査委員	教授	斎藤 祐見子																
審査委員	教授	古川 康雄																
審査委員	教授	山崎 昌廣																
審査委員	教授	石田 敦彦																
<p>〔論文審査の要旨〕</p> <p><i>Neurosecretory protein GL (NPGL)</i> 及び <i>Neurosecretory protein GM (NPGM)</i> は、鳥類の視床下部漏斗部より初めて発見された新規遺伝子であり、脊椎動物に広く存在することから重要な生理機能を担うことが示唆されている。<i>NPGL</i> 及び <i>NPGM</i> は分泌性小タンパク質の前駆体をコードすることが示唆されており、成熟 <i>NPGL</i> 及び <i>NPGM</i> は約 80 アミノ酸残基の長鎖ペプチドからなり、活性や立体構造形成に重要な C 末端アミド化やジスルフィド結合を有していることが示唆される。しかしながら、内因性の <i>NPGL</i> 及び <i>NPGM</i> は同定されておらず、哺乳類の <i>NPGM</i> のジスルフィド結合の位置や、<i>NPGL</i> 及び <i>NPGM</i> の生理機能は明らかになっていない。<i>NPGL</i> 及び <i>NPGM</i> の生理機能を解明するためには、行動及び形態解析等に用いるための大量のペプチドが必要であるが、最も一般的なペプチド合成法である固相法では 50 残基以上の長鎖ペプチドを合成することは極めて困難である。そこで本研究では、分子生物学的手法から有機化学的手法まで様々な手法を用いて、ラット及びニワトリの <i>NPGL</i> と <i>NPGM</i> の合成法を確立することを目的とした。</p> <p>博士論文は序論、本論 4 章、結論からなり、本論第 1 章では大腸菌を用いた組み換え発現系による調製、第 2 章ではペプチドフラグメント縮合法による調製、第 3 章ではマイクロウェーブを用いた固相法による調製、第 4 章では調製した小タンパク質の二次構造の解析と形成に関する研究内容を記載している。第 1 章では、大腸菌の転写・翻訳システムを用いることにより、化学合成することが困難な長鎖の <i>NPGL</i> と <i>NPGM</i> の発現系を確立した。一方で、アミド化酵素による C 末端のアミド化効率が不十分であることを明らかにした。第 2 章では、確実に C 末端がアミド化したペプチドフラグメントを化学合成し、N 末側フラグメントに縮合することにより、<i>NPGM</i> を調製することに成功した。収量は約 10 日間で数 mg であった。第 3 章では、より迅速且つ高収率な調製法を確立するために、マイクロウェーブを用いた固相法による調製を試みた。マイクロウェーブの照射は合成効率の飛躍的な向上が期待できるが、同時に副反応のリスクも高めてしまうため、様々な各種試薬やマイクロウェーブの照射条件を比較検討して合成条件を最適化した。その結果、約 5 日間で 30～160 mg の <i>NPGL</i> と <i>NPGM</i> を得られる大量合成法を確立した。第 4 章では、哺乳類細胞や大腸菌に産生させたラットの <i>NPGM</i> のジスルフィド結合の位置を解析し、その他の <i>NPGL</i> 及び <i>NPGM</i> とは異なる位置で架橋されていることを明らかにした。さらに、マイクロウェーブを用いた固相法により合成した <i>NPGL</i> と <i>NPGM</i> のジスルフィド結合の形成を試み、疎水性の高い <i>NPGL</i> と <i>NPGM</i> について、溶媒組成を最適化することによって効率的な架橋法を確立した。本研究は、総合すると約 10 日間で 5～50 mg の <i>NPGL</i> と <i>NPGM</i> を調製できる系を確立したものであり、高い学術的価値を有する。本合成量は、特異的抗体の作製や単回投与実験のみならず、慢性投与実験も遂行可能な収量であり、これによって <i>NPGL</i> 及び <i>NPGM</i> の生理機能の検定を初めて可能にした。</p> <p>以上、審査の結果、本論文の著者は博士（学術）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。</p>																		

備考 要旨は、1,500 字以内とする。