

氏名	川 上 泰 彦
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	薬 学
学位授与番号	博乙第3009号
学位授与の日付	平成8年3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文題目	タンパク質のN末端修飾アミノ酸(N-blocked amino acid)の高感度決定法, 及び生体試料中の遊離体N-アセチルアミノ酸の高感度定量法
論文審査委員	教授 大森 晋爾 教授 土屋 友房 教授 早津 彦哉 教授 山本 啓司 教授 金澤 浩

学位論文内容の要旨

問題点と目的 ①生体試料中に遊離のN-アセチル(Ac)アミノ酸の存在が報告されているが、その良い分析法がないために、生化学については研究が進んでいない。②またタンパク質のN末端のアミノ基は多くの場合修飾されており、そのためその一次構造解析の際、大きな障害になっている。③これらの問題の解決のため、アミノ基を閉塞されたアミノ酸(N-blocked amino acids; N-BAA)の簡便かつ高感度な定量法の開発と、生体試料への応用及びタンパク質のN-BAAの決定法について研究を行った。

原理 N-BAAをメタノール中で9-anthryldiazomethane (ADAM)と反応させエステル化した後、反応液を蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィーにより同時分析した。

結果 遊離の、N-Ac体のAsn, Gln, Ser, Thr, Gly, Ala, Tyr, Pro, Met, Val, Leu, Ile及びピログルタミン酸、N-formylMet、N-myristoylGlyの同時定量が可能となった。本定量法を生体試料へ応用したところ①ラット肝、腎等には遊離のN-AcAAを検出できなかったが、パン酵母破碎液中の遊離のN-AcAla及びN-AcTyrを定量することができた。②N末端閉塞タンパク質をプロテアーゼ処理してN末端よりN-BAAを遊離させた後、ADAMと反応させて分析したところ、過去の報告からN末端閉塞基の95%以上を占める、7種類のN-BAA残基を決定できた。

考察 ①過去に実用的で高感度の生体試料中の遊離N-Acアミノ酸の定量法が存在しなかった。この研究によりそれが可能となった。②約100 pmolのタンパク質でN末端のN-BAA残基を決定することが可能になった。

論文審査結果の要旨

学位論文提出者は、以下の内容について平成8年1月18日、岡山大学薬学部大講堂において学位論文研究の発表を行ない、審査用の学位論文を平成8年2月7日に提出した。

研究を開始するにあたっての問題点と目的について：①生体試料中に遊離のN-アセチル(Ac)アミノ酸の存在が報告されているが、その良い分析法がないために、生化学については研究が進んでいない。②またタンパク質のN末端のアミノ基は多くの場合修飾されており、そのためその一次構造解析の際、大きな障害になっている。③学位論文提出者は、これらの問題の解決のため、アミノ基を閉塞されたアミノ酸(N-blocked amino acids; N-BAA)の簡便かつ高感度な定量法の開発と、生体試料への応用及びタンパク質のN-BAAの決定法について研究を行った。

実験の原理：N-BAAをメタノール中で9-anthryldiazomethane (ADAM)と反応させエステル化した後、反応液を蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィーにより同時分析した。

上記の原理に基づき実験結果として、遊離の、N-Ac体のAsn, Gln, Ser, Thr, Gly, Ala, Tyr, Pro, Met, Val, Leu, Ile及びピログルタミン酸、N-formylMet、N-myristoylGlyの同時定量が可能となった。学位論文提出者は、この定量法を生体試料へ応用したところ①ラット肝、腎等には遊離のN-AcAAを検出できなかったが、パン酵母破碎液中の遊離のN-AcAla及びN-AcTyrを定量することができた。②N末端閉塞タンパク質をプロテアーゼ処理してN末端よりN-BAAを遊離させた後、ADAMと反応させて分析したところ、過去の報告からN末端閉塞基の95%以上を占める、7種類のN-BAA残基を決定できた。

この研究によって ①過去に実用的で高感度の生体試料中の遊離N-Acアミノ酸の定量法が存在しなかった。この研究によりそれが可能となった。②約100 pmolのタンパク質でN末端のN-BAA残基を決定することが可能になった。そのため学位申請者の研究は、N-BAAの生化学とタンパク質の1次構造解析学の分野で、新しく且つ実用的な手法を提供することで、これらの分野の研究に大きく貢献している。また、この研究に対しては70以上の論文請求がきており、多くの研究者の関心を集めている論文である。よって博士(薬学)の学位論文に値する。