

# 第387回生命科学セミナーのお知らせ

下記の通り生命科学セミナーが開催されますので、教員・院生・学生を問わず、多数ご参加下さい。

## 記

**日時：** 平成28年2月8日(月) 15:00~16:30

**場所：** 広島大学 総合科学部 第一会議室

**演題：** 新規視床下部分泌性小タンパク質の合成法の確立

**演者：** 益田 恵子 氏

(広島大学・大学院総合科学研究科 博士課程後期)

### 〈 講演要旨 〉

*Neurosecretory protein GL (NPGL)* 及び *neurosecretory protein GM (NPGM)* は、鳥類の視床下部漏斗部より同定された新規遺伝子である。成熟 NPGL 及び NPGM は、約 80 アミノ酸残基の長鎖ペプチドであり、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することが示唆されている。NPGL 及び NPGM の生理機能を解明するためには動物投与実験等に用いるための大量のペプチドが必要であるが、いずれも長鎖で疎水性が高く、最も一般的なペプチド合成法である固相法では合成困難である。そこで本研究では、NPGL 及び NPGM の合成法を確立することを目的とし、長鎖ペプチドの調製が容易な大腸菌を用いた組み換え発現系、タンパク質スプライシングの原理を応用したペプチド縮合法である Native chemical ligation 法、合成困難なペプチドの合成法として近年注目されているマイクロウェーブを用いた固相法、ペプチドの凝集抑制効果のある *O*-アシルイソペプチド法やシュードプロリンジペプチド法等、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試みた。

各種条件検討の結果、マイクロウェーブを用いた固相法とシュードプロリンジペプチド法を組み合わせることで、rat NPGL、rat NPGM、chicken NPGL、chicken NPGM を簡便且つ迅速に合成することができた。続いて、合成物のジスルフィド結合の形成を試みた。まず、Cys 残基を 3 つ持つ rat NPGM の架橋位置を、哺乳類培養細胞や大腸菌に発現させた rat NPGM を用いて解析した結果、N 末側の 2 つの Cys 残基間で架橋していることが明らかになった。次に、NPGL 及び NPGM の架橋形成方法を検討した結果、rat NPGL、chicken NPGL、chicken NPGM は 50%アセトニトリル中でグルタチオンにより、rat NPGM は DMSO 酸化法により架橋させることができた。最終的に、約 10 日間で、rat NPGL 30 mg、rat NPGM 5 mg、chicken NPGL 20 mg、chicken NPGM 50 mg を合成できる系を確立し、NPGL 及び NPGM の生理機能の検定が初めて可能になった。

**責任者** 総合科学研究科・浮穴和義 (内線 6571)

**主催者** 生物圏科学研究科・清水典明 (内線 6528)

(注) 生命科学共同セミナーを受講する生物圏科学研究科の院生は、特に積極的に参加してください。

(注) 今回は学位論文の公聴会を兼ねています。