

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 村田 千恵

本研究は、タンパク質の機能調節に重要な役割を果たしている翻訳後修飾の一つである脂質修飾の網羅的な解析方法を確立するために、ラット脳のラフト画分を質量分析 (Mass Spectrometry, MS) を用いて様々なタンパク質の同定や脂質修飾の解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 脂質修飾されたテストペプチドと脂質修飾されていないテストペプチドの混合溶液を、C18 の逆相カラムを用いた LC (Liquid Chromatography)-MS/MS で測定することにより、脂質修飾されたテストペプチドと脂質修飾されていないテストペプチドの分離が示された。さらに、脂質修飾解析のためのデータベースを作成し、検索を行ったところ、それぞれのペプチドを同定することが可能であることが示された。
2. 脂質修飾されたテストペプチドの MS/MS スペクトルの解析から、脂質修飾基はペプチドに結合したフラグメントイオンで検出された。この結果から、脂質修飾基の解析には脂質修飾基+アミノ酸の分子量のフラグメントイオンを探索することが有効であることが示された。
3. アルカリ性条件下で行う還元アルキル化方法では、パルミトイル基が脱離されることが示された。そのため、酸性条件下で脂質修飾解析を行う必要があることが示された。
4. MS を用いてタンパク質解析を行ったところ、ラットの脳のラフト画分から、266 個のタンパク質を同定することができ、その中に既知の脂質修飾タンパク質は 53 個含まれていることが示された。
5. MS を用いて脂質修飾解析を行ったところ、ラットの脳のラフト画分から、既知の脂質修飾タンパク質のミリストイル基やパルミトイyl基、ゲラニルゲラニ

ル基が修飾されたペプチド、さらに、脂質修飾の報告がなかった **Syntaxin binding protein1** からパルミトイル基が修飾されたペプチドを同定することが示された。

6. MS で同定したタンパク質を翻訳後修飾される成熟タンパク質のアミノ酸配列に変えて登録した新しいデータベースを作成し、そのデータベースを用いて脂質修飾を解析することにより、多種類の脂質修飾ペプチドの同定が可能になり、包括的な脂質修飾タンパク質解析方法を確立することができた。

以上、本論文は脂質修飾において、LC-MS/MS を用いた解析方法から、複数の脂質修飾タンパク質の同定と同時に脂質修飾基や脂質修飾部位の同定が可能になった。さらに、既知の脂質修飾タンパク質だけでなく、脂質修飾されると報告がなかったタンパク質の脂質修飾も解析する包括的な方法を確立することができた。本研究は、脂質修飾の生理的な役割やタンパク質の機能解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。