



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Significance of D-amino acids in novel neuropeptides from Achatina fulica                                                                       |
| Author(s)    | 安田, 好美                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1997, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/40276">https://hdl.handle.net/11094/40276</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|               |                                                                                                                          |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | 安 田 好 美                                                                                                                  |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (理 学)                                                                                                                |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 3 2 6 0 号                                                                                                            |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 9 年 3 月 25 日                                                                                                          |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当                                                                                                         |
| 学 位 論 文 名     | Significance of D-amino acids in novel neuropeptides from <i>Achatina fulica</i><br>(アフリカマイマイ由来新規神経ペプチドに含まれる D 型アミノ酸の意義) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 崎 山 文 夫<br><br>(副査)<br>教 授 長 谷 純 宏    教 授 永 井 克 也                                                            |

### 論 文 内 容 の 要 旨

軟体動物アフリカマイマイは、脊椎動物に比して単純な神経系を有し、神経細胞も大きいことから、神経生理学や薬理学的研究によく用いられている。私はアフリカマイマイの神経伝達に関わる物質を研究する過程で、D型アミノ酸を含む数種の神経ペプチドを発見した。本研究は、これらの新規ペプチドの構造と生理作用を明らかにし、ペプチド鎖内のD型アミノ酸の合成とその存在意義について考察することを目的として行った。

最初に本動物の脳神経節と食道下神経節より神経興奮作用を示すachatin-I (Gly-D-Phe-Ala-Asp) と何ら作用を示さないachatin-II (Gly-Phe-Ala-Asp) を単離した。さらにachatin-I の神経に対する作用は、Na<sup>+</sup>依存性であることが判った。構造活性相関を検討したところ、その作用は立体特異的且つ各側鎖の構造に特異的であった。X線結晶解析ではachatin-I はターン構造を有しachatin-II は主鎖が伸びた構造であることから、活性を示すためのターン構造の重要性が示唆された。続いて、同じアフリカマイマイの神経節中からfulicin(Phe-D-Asn-Glu-Phe-Val-NH<sub>2</sub>) を単離した。これら2つのペプチドに存在するD型アミノ酸の生合成経路を考察するために、脳神経節と食道下神経節からcDNAライブラリーを作成し、fulicin の前駆体蛋白質に対するcDNAをクローニングした。塩基配列分析の結果、D-Asn は通常のL-Asn のコード (AAT) でコードされていることが判明し、さらに、前駆体蛋白質は1コピーのfulicin と少なくとも9種類のC末端アミド型神経ペプチド [fulicin gene-related peptide (FGRP)-1 ~ 9] を含むと推定された。この中で7種類は新規ペプチドであり、2種類は他のマイマイから単離された神経ペプチドの構造と同じであった。ノーザンブロッティングの結果、前駆体蛋白質のmRNAは神経節のみならず、心臓においても発現していることが判った。さらに *in situ* hybridizationにより、fulicin 前駆体を発現している細胞が脳神経節と食道下神経節の両方に存在していることが明らかになった。次に心房からfulicin や推定上のFGRPの単離を試みた結果、fulicin, [L-Asn<sup>2</sup>] fulicin, [D-Ala<sup>2</sup>] FGRP-9 (fulyal, Tyr-D-Ala-Glu-Phe-Leu-NH<sub>2</sub>), FGRP-2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 (全てL型) を同定することが出来た。本動物の陰茎牽引筋に対するFGRPの作用を合成品を用いて検討したところ、fulyalだけがfulicin と同様の強力な収縮増強活性を示し、その作用は立体特異的であることが判った。

以上、本研究は、神経節や心房に存在する3種類のD型アミノ酸を含む神経ペプチドを単離し、神経細胞や筋肉に対する種々の生理作用を明らかにした。またこれらの作用を発現するためにはN末端より2番目のアミノ酸残基がD型であることが共通していた。これらのD型アミノ酸を含む神経ペプチドは、mRNAから翻訳された前駆体蛋白質

から、ペプチド鎖内の立体異性化を含む種々の修飾を受けて生合成されていることが示唆された。現在、D型アミノ酸を含むペプチドは他の数種の無脊椎動物や脊椎動物からも見出されており、真核生物のペプチドは全てL型アミノ酸より成るという常識は、覆されつつある。本研究は、ペプチド鎖内の特定のアミノ酸残基の立体配置の変換という現象を翻訳後修飾の一例として捉えられる可能性を示すとともに、これまでの生体内情報伝達の分子機構に新しい視点を提供するものである。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は、神経興奮作用を有するD-アミノ酸含有ペプチドを発見し、その構造解析、生合成機構および局在性を研究したものである。天然の生理活性ペプチドがD-アミノ酸を含む例は少なく、本研究により、それらのペプチドの多様性と生合成機構に貴重な知見を提供した意義は大きく、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。