

(様式 11)

平成 27 年 2 月 16 日

学 位 論 文 審 査 要 旨 (課程博士)

東京農工大学大学院工学府長 殿

審査委員	主査	朝倉 哲郎	印
	副査	池袋 一典	印
	副査	長澤 和夫	印
	副査	中村 暢文	印
	副査	黒田 裕	印
	副査		印

学位申請者	生命工学専攻 平成 26 年度入学 学籍番号 14831101
	氏 名 奥下 慶子
申請学位	博 士 (工学 學術)
論文題目	Structural Analysis of Crystalline Fraction of <i>Bombyx mori</i> Silk Fibroin by using Advanced Solid State NMR 最新の固体 NMR 手法を用いた家蚕絹フィブロイン結晶部の構造解析
論文審査要旨 (2000 字程度)	
<p>家蚕絹フィブロインは再生医療をはじめとする多くの分野において応用が期待される高分子材料であり、その物性制御には構造に関する知見及び構造解析手法の開発が不可欠である。家蚕絹フィブロインは全体の 90%以上が Ala-Gly 繰り返し配列部からなるが、なかでも Ser を含んだ結晶部と呼ばれる領域が最も主要であり、全体の 56%を占める。</p> <p>本論文は、この結晶部配列のみを<math>\alpha</math>-chymotrypsin 処理により分離された結晶部試料(Cp フラクション) について、非晶相も含めた構造解析が可能な固体高分解能 <math>^{13}\text{C}</math> NMR 法を駆使した構造解析手法の構築を行った研究をまとめたものであり、6 章より構成されている。</p> <p>第 1 章「緒言」では、家蚕絹フィブロインの構造と不均一構造を解析するための固体 NMR の手法について述べてあり、本研究に関する目的が記述されている。</p> <p>第 2 章「家蚕絹 Cp-fraction の Silk II 型構造における <math>^{13}\text{C}</math> NMR ピークの各ドメインへの帰属」では、構造解析のための足掛かりとして、スペクトルの 2 次元化による化学シフトの検出と化学シフトマップの利用による二次構造の決定が行われている。家蚕絹フィブロイン Cp フラクション中の Ser 残基については、本論文において初めて詳細に化学シフトの帰属が行われた。</p>	

第3章「 $\beta$ -シートドメインの3次元的なパッキング構造評価のための定量的解析手法の検討ー構造既知である逆平行 $\beta$ -シート構造を持つAla4量体による検討」では、3次元的な構造座標が既知である逆平行 $\beta$ -シートAla4量体(AP- $\beta$ -Ala<sub>4</sub>)を用いて、<sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C同種核相関NMRピークのビルドアップカーブ解析に関する基礎検討が行われている。本章において、既存法であるProton Driven Spin Diffusion (PDS)法と、測定感度が改良された手法として知られる<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C Dipolar-assisted Rotational Resonance (DARR)法の解析結果を比較・検討を行い、距離のみを考慮したビルドアップカーブの再現にはDARR法がより適していることが実験的に示されている。

第4章「化学シフトが一致する候補構造を仮定した<sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C DARRビルドアップカーブ解析の応用とSilk II型構造を取る家蚕絹Cpフラクシヨンのための手法開発」では、既報にて提案された(AG)<sub>15</sub>モデルペプチドの2種類の分子間配置の異なる $\beta$ -sheet構造を仮定して、前章で検討したビルドアップカーブ解析をCpフラクシヨンのデータへ適用している。Cpフラクシオンにおいては、配列中にSer残基を挿入することにより炭素間での相互作用に組み合わせが生じること、また、天然由来の試料であるため<sup>13</sup>C核ラベル化率の違いが生じ、計算と実測のビルドアップカーブの一致度に影響を与えることが示されている。最適化された解析条件でのビルドアップカーブ解析結果では、許容誤差範囲に匹敵する実験値との一致が見られたが、次章における2種類の $\beta$ -sheet間での近接構造に関する結果を考慮すると、完全な一致のためには2つの $\beta$ -sheet間の位置関係についても考慮する必要性の有ることが示唆された。

第5章「家蚕絹CpフラクシヨンのSilk II型構造中における $\beta$ -シートドメインのモデリングのための考察」では、第2章よりも長距離の炭素核間相関が検出される条件で2次元<sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C同種核相関NMR測定を行い、さらに、<sup>1</sup>H核の緩和時間によるドメインサイズの評価結果を組み合わせることで、Cpフラクシオン中に含まれる秩序性の低い領域も含めた階層的な構造を解析する手法を構築した。

第6章「結論」では、論文全体の総括と各章の結論・意義について記述されている。

これらの研究成果は、学術的にも優れたものであり、3編の学術論文としてまとめられている。そのうち1編がすでに受理されており、残り2編については投稿中及び作成中である。また、この新規な固体NMRによる構造解析手法は、他の高分子材料の構造解析への応用が期待される。

以上のことから、本論文が学位論文として優れたものであることを評価し、合格と判定した。