

Title	ヒト由来の毒素原性大腸菌の産生する耐熱性エンテロトキシンの化学合成とその生物学的, 物理化学的性質に関する研究
Author(s)	池邨, 治夫
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33925
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

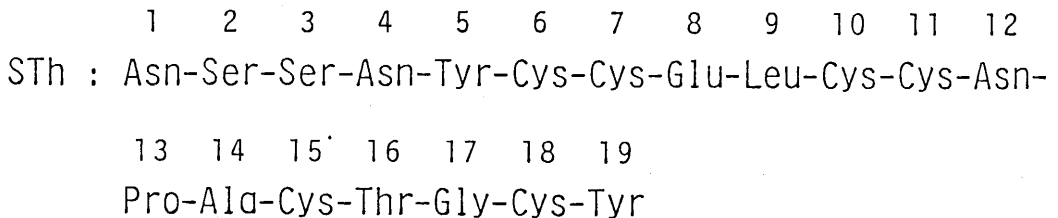
Osaka University

【 3 】

氏名・(本籍)	いげ 池	むら 邨	はる 治	お 夫
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	6 3 6 5	号	
学位授与の日付	昭和 59 年 3 月 24 日			
学位授与の要件	理学研究科 有機化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	ヒト由来の毒素原性大腸菌の産生する耐熱性エンテロトキシンの化学合成とその生物学的、物理化学的性質に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教授 泉 美治			
	(副査) 教授 京極 好正	教授 芝	哲夫	助教授 下西 康嗣

論 文 内 容 の 要 旨

本研究はヒトの下痢患者に由来する毒素原性大腸菌の産生する耐熱性エンテロトキシン（構造は以下に示す如くでSThと略す）について 1) 提案されたSThの一次構造を合成によって確認する。2) SThの構造と活性及び、構造と抗原性との関係を解明するため、各種のアナログを合成する。3) NMRスペクトルを用いてSThの溶液中での立体構造を解明する、の諸点を目的として行った。



合成はSThをN末端から1～5, 6～9, 10～14, 15～19の4つの部分に分け、各々の部分に相当する保護ペプチドフラグメントを合成したのち、C末端側より順次縮合して目的の保護ペプチドフラグメントを得た。そして得られた保護ペプチドを無水フッ化水素中で処理してすべての保護基を除去したのち、高稀釈下で空気酸化を行った。次いでイオン交換クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によって精製し、合成SThを得た。他のアナログ（SThの2-19, 3-19, 4-19, 5-19, 6-19, 6-18の各位の配列を持つ）についても基本的には同様に合成した。

合成SThは、最少毒素活性発現量、耐熱性、抗STh抗血清による毒素活性の中和、の諸点において、天然物と同等の性状を示し、またHPLCの溶出位置及び500MHzの¹H-NMRスペクトルにおいても両者は完全に一致した。従って、先に示したSThの一次構造が正しいことが確認された。

さらに合成SThと同様の方法で得られたアナログの諸性質を検討した結果、SThはそのN末端側5残基及びC末端残基を欠いても、毒素活性に変化はないこと、抗血清によっても天然物と同様にその毒素活性が中和されることが明らかとなり、SThの活性中心と抗原決定部位が共にN末端より6番目から18番目までの残基の間にあることが明らかになった。一方STh〔6-19〕のNMRスペクトルにおいて、各シグナルの温度依存性、アミドプロトンのH-D交換過程、各プロトン内のOverhauser効果を詳細に測定した結果、SThのジメチルスルホキシド中での立体構造、即ちSThはCys(6)-Cys(11), Cys(7)-Cys(18), Cys(10)-Cys(15)の間でジスルフィド結合を形成し、また、Asn(12)のカルボニル基とCys(15)のアミドとの間で分子内水素結合している-を推定することができた。

論文の審査結果の要旨

毒素原性大腸菌は幼児や家畜に急性下痢を引き起す原因となる易熱性で高分子量の毒素(LT)と、耐熱性で低分子量の毒素(ST)を産生する、これらの毒素のうち人下痢患者由来毒素原性大腸菌SK-1株より単離されたST(SThと記す)は19ケのアミノ酸残基から構成され、また3ケのジスルフィド結合によって分子内架橋されている。

池邨治夫君はSThの構造と活性相関を明らかにするために、SThを収率よく得る化学合成法を確立するとともに、SThアナログ数種の化学合成を行ない、それらの生物活性、核磁気共鳴スペクトルの詳細な研究からSThの活性中心とその立体構造の解明に成功した。

すなわち、STは菌培養液からの分離が困難なために、その生物学的諸性質の解明が遅れていたが、純粋なSThを多量得る化学合成法の確立によって、本毒素の研究を推進する道を開いた。そしてSThのアナログの毒性及びSThに対する抗STh抗血清との反応から、SThの3ケのジスルフィド結合によって形成される構造が抗原決定基として、また活性発現に重要な役割を果していることを明らかにした。

次いで、STh及びSThアナログの500 MHzにおけるプロトンNMRスペクトルのNuclear Overhauser Effect (NOE)を詳細に測定し、プロトン間の相互の距離、主鎖上に隣接して存在するプロトン間の二面角から、SThの溶液中での立体構造を推定し、特に分子内に存在する3ケのジスルフィド結合の位置を解明した。

同君は極めて特異な構造を有するペプチドの化学に寄与するとともに、生物毒素研究に極めて重要な成果を挙げたもので、本論文は理学博士の学位論文として十分なものと認める。