Osaka University Knowledge Archive

Title	マウステラトカルシノーマの分化に伴って発現するプラスミノーゲンアクチベーターの産生と精製
Author(s)	市川, 範夫
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34651
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【5】

氏名・（本籍）	市川範夫（いちかわ のりお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6799 号
学位授与の日付	昭和60年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**マウステラトカルシノーマの分化に伴って発現するプラスミノーゲンアクチベーターの産生と精製**
論文審査委員	（主査） 教授 松代 愛三 （副査） 教授 藤尾 啓 教授 高橋 理明

論文内容の要旨

（目　的）

プラスミノーゲンアクチベーター（P.A.）はembryogenesisの過程で，細胞の再構築や移動に関与しており，重要な役割をしているものと考えられる。このP.A.は発生の過程で初期に発現するマーカーエンザイムとして一般的に用いられている。しかしながら，これまでに報告された培養条件では精製するに十分な酵素量が得られないためこの酵素の精製およびその諸性質については報告されていない。今回，P.A.の大量産生培養条件を検討し，さらに精製を行なった。

（方法ならびに成績）

多分化能をもつ培養細胞311を129マウス皮下に移植し，腫瘍を造る。これを摘出し，トリプシンEDTA処理し細胞分離後，血清無添加のDulbecco's Modified Eagle Mediumで浮遊培養する。培養開始後直ちに分化のinducerとして酪酸ナトリウム（5～10 mM）を入れ，約1日培養する。さらに培地を1～2日毎にくみ出しストックする。この培地を出発材料にP.A.の精製を行なった。すなわちin vivoで未分化細胞を大量にふやし，in vitroで分化誘導を行ない，P.A.を産生させた。尚，P.A.活性はフィブリンプレート法で測定した。精製にはP－Cellulose，Zn^{2+} chelate，Con－A sepharose，Sephadex等を用いた。

1）P.A.大量産生培養系の確立

皮下腫瘍を使うことにより大量の未分化細胞を得ることができた。さらにinducerに酪酸ナトリウムを使うことで簡便な浮遊培養下において比較的短時間でP.A.産生を誘導できた。さらにP.A.産生は培地交換をくり返すことにより持続した。尚，従来よりinducerとして使われているレチノイン酸等では

この条件ではP.A. 産生はみられなかった。

2）精製P.A。の諸性質

分子量77,000，等電点7.3±0.1の糖タンパクで，さらにZymogramによりこの分子種がP.A.活性をもっていることを確認した。またP.A.は免疫学的にウロキナーゼタイプ（u－P.A.)とティシュタイプ(t－P.A.)に分けられる。今回得たP.A。は抗ヒトメラノーマP.A.血清により活性が中和され，t－P.A.であることが示唆された。マウス初期発生において，両タイプのP.A.の発現は細胞種特異的であることが報告され，このうちparietal endodermが産生するP.A.は今回誘導されたP.A.と諸性質の一致をみた。このことより，酪酸ナトリウムはparietal endoderm様細胞に分化させるものと思われる。

（総　括）

簡便なるP.A.大量産生培養系を確立し，同時にこの系を用いP.A.の精製および諸性質を明らかにした。今後の発生分化の分子レベルでの理解に重要な手がかりを与えたものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

マウステラトカルシノーマ細胞を浮遊培養のまゝNa-butyrateで誘導し，分化形質であるプラスミノーゲン アクティベーター（以下P.A.)を産生される系を確立した。この系で大量培養して得た上清からP.A.の精製を行ない，得られたタンパク標品について，分子量7.7万，等電点pH 7.3と決定した。尚この酵素活性は抗ーヒトメラノーマP.A.抗体により阻害を受ける。本論文は医学博士論文として価値があると認定した。