



| | |
|--------------|--|
| Title | ウサギ肝ミクロゾームの多環炭化水素で誘導されるチトクロムP-450のcDNAのクローニングとその構造解析 |
| Author(s) | 香川, 憲夫 |
| Citation | 大阪大学, 1986, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35318 |
| 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。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【3】

| | |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 香川 憲夫 |
| 学位の種類 | 理学博士 |
| 学位記番号 | 第 7370 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和 61 年 6 月 21 日 |
| 学位授与の要件 | 理学研究科生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当 |
| 学位論文題目 | ウサギ肝ミクロゾームの多環炭化水素で誘導されるチトクロム P-450 の cDNA のクローニングとその構造解析 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 佐藤 了 (副査) 教授 松原 央 教授 二井 將光 |

論文内容の要旨

肝ミクロゾームに存在するチトクロム P-450 (P-450) は、ステロイドなどの内在性の基質や種々の外来性薬物の代謝、解毒に重要な働きをしている。種々の動物の肝から数多くの P-450が精製されているが、一般に、肝ミクロゾームの P-450は基質特異性が広く、その基質特異性は互いに重複しており、又、免疫的にクロスする傾向が強く P-450の研究を複雑なものにしている。そこで本研究では、多環炭化水素で誘導されるウサギ肝ミクロゾームの P-450についてクローニングを行い、2種のクローンを得てその塩基配列を決定した。

多環炭化水素として 3-メチルコラントレンを投与したウサギ肝から RNA を調整し、ショ糖密度勾配遠心法で部分精製した P-450 の mRNA を用いて、Okayama-Berg の方法により cDNA を合成した。約 1,300 個のコロニーから約 130 個の P-450 の cDNA クローンを分離した。これらのクローンから、比較的長いインサートを含む 2種の P-450 のクローン (pSK193 及び pSK144) を得た。pSK193 のインサートは 2300 塩基対で、P-450 のアミノ酸配列 518 残基に相当する翻訳領域の全域を含んでいた。一方、pSK144 のそれは 1700 塩基対で、N 末端から 120 アミノ酸残基に相当する翻訳領域が欠けたクローンであった。両者の予測されるアミノ酸配列は、ラットの P-450c 及び P-450d と高い類似性を示し、この対応関係からそれぞれ pSK193 は P-450_{LMB}, pSK144 は P-450_{LM4} の cDNA クローンであると考えられた。この 2種のクローンの塩基組成は、共に G + C 含量が 63% と高い値を示し、使用されているコドンには 3 番目の塩基が C 又は G である傾向が強く認められた。得られた 2種の cDNA をプローブとしてウサギ肝の核より抽出した DNA について Southern プロットを行った結果、これらの cDNA とハイブリダイズする遺伝子の種類は多くとも数種と考えられた。更に、種々の薬物で誘導した肝より

RNAを抽出し、これらのNorthernプロットを行った結果、2種のクローンに対応するmRNAの薬物による誘導の傾向は類似しており、又、両者共に3-メチルコラントレンで強く誘導を受けることが確認された。

論文の審査結果の要旨

肝細胞ミクロゾームには多くの種類のチトクロムP-450が存在し、動物に薬物を投与すると、投与した薬物の種類に応じて特定分子種のP-450の合成が誘導される。香川君は肝ミクロゾームのP-450の分子多様性の生物学的意義の解明と薬物による誘導機構の解明を目指して、ウサギ肝ミクロゾーム中の3-メチルコラントレンなどの多環炭化水素で誘導されるP-450cDNAのクローニングとその構造解析を行った。

3-メチルコラントレン(MC)を投与したウサギの肝からP-450のmRNAを部分精製し、それを用いてcDNAライブラリーを構築した。ラットのMC誘導性のP-450dのcDNAをプローブとしてスクリーニングを行い、完全長のcDNAクローン1個とアミノ末端から110個のアミノ酸残基をコードする部分を欠いた不完全長のクローン1個を単離し、それらのヌクレオチド配列を決定した。この2つのcDNAにコードされるP-450は明らかに異なり、完全長のクローンは518アミノ酸残基から成るP-450をコードするものであった。また配列の相同性から完全長と不完全長のクローンはそれぞれラット肝のP-450cおよびP-450dに対応するものであることが明らかになった。不完全長のクローンの3'-非翻訳領域には145アミノ酸残基から成るポリペプチドをコードできる読み枠が存在することが見出されたが、その意義は不明である。これら2つのクローンをプローブとしてウサギのゲノムDNAのSouthernプロット分析を行ったところ、フェノバルビタールで誘導されるP-450の場合と異なり、MCで誘導されるP-450の遺伝子は多くても3~4個にすぎないことが明らかとなった。

以上の成果は肝ミクロゾームのP-450の分子多様性の意義について重要な示唆を与えるものであり、理学博士の学位に十分価値あるものと認められる。