Osaka University Knowledge Archive

Title	遺伝子組換え法によるソマトメジンCとαーヒト心房由来ナトリウム利尿ポリペプチドの合成
Author(s)	齋藤, 善正
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35400
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

【35】

氏名・(本籍)	齋藤善正（さいとう よしまさ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 7587 号
学位授与の日付	昭和62年3月18日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**遺伝子組換え法によるソマトメジンCとα－ヒト心房由来ナトリウム利尿ポリペプチドの合成**
論文審査委員	(主査) 教授 福井 俊郎 (副査) 教授 二井 將光　教授 松原 央

論文内容の要旨

生体内には生理活性をもつ多種類のポリペプチドの存在が知られているが，微量にしか得られないために詳細な研究が困難であった。最近になり遺伝子組換えが可能になり，そのような微量成分の大量合成の道が開かれてきた。私は，この方法を用いて以下のような研究を行った。1）70残基より成る塩基性ポリペプチドであるソマトメジンCの直接発現法による合成を試みたところ，産物は大腸菌体内において不安定であり，速やかに分解されてしまうことを観察した。2）これを安定化するために，菌体内で不容化しやすいような中性付近に等電点をもつ種々の融合ポリペプチドの合成を試みた。ソマトメジンCとインターフェロンγの一部をメチオニンを介してつないだ融合ポリペプチドをコードする遺伝子を調製し，それを大腸菌内で発現させることにより，安定な融合ポリペプチドが得られることを見いだした。目的物は接合部位のメチオニンを臭化シアンで選択的に分解してから単離し，酸化的に再生させることにより，天然物と同一の構造および生理活性をもつ標品に導くことができた。3）同様な手法でα－ヒヒト心房由来ナトリウム利尿ポリペプチドを合成するために，目的のポリペプチドがリジンを介して保護ポリペプチドにつながれた中性の融合ポリペプチドをコードする遺伝子を調製し，大腸菌体内で発現させた。得られた融合ポリペプチドをAchromobacterプロテアーゼIで消化してから，単離した目的物を酸化的に再生して天然物と同一の構造および生理活性をもつ標品に導くことができた。4）中性付近で不溶化して安定化されながら，なおかつ，切り出しを必要としない方法として，2シストロン系によるソマトメジンCの直接発現を試みた。酸性のポリペプチドをコードする遺伝子を第1シストロンに，塩基性のソマトメジンCをコードする遺伝子を第2シストロンにもち，かつ，第1シストロンの終止コドンと第2シストロンの開始コドンが1塩基重複した発現ベクターを調製した。このベクター

を大腸菌体内で発現させたところ，アミノ末端にメチオニン残基をもつソマトメジンCが酸性の保護ポリペプチドと共に大量に合成されることを認めた。

論文の審査結果の要旨

ソマトメジンCとα－ヒト心房由来ナトリウム利尿ポリペプチドはそれぞれ70残基，28残基のアミノ酸から成るポリペプチドで，動物体内に微量に存在する生理活性物質である。これらの物質は生物学的ならびに臨床的に重要と考えられるのにかかわらず，大量に得ることが困難であったために生理的な研究がほとんど行われていなかった。斎藤君はこれら物質を最近急速に進展してきた遺伝子組替え法によって大量に合成しようとした。最初に試みた直接発現法では，合成された物質が大腸菌の体内で不安定であり，すぐに分解されてしまいまうことを認めた。そこで，菌体内で不溶化しやすいような中性付近に等電点をもつ融合ポリペプチドとして合成してから，目的物を酵素または化学試薬により選択的に切断して単離し酸化的に再生させるという新しい方法により，天然物と同じ構造と活性をもつ目的物質を合成することに成功した。さらに，同じような考え方にもとずいて2シストロン系による安定化を試み，それによってもMet－ソマトメジンCを合成することに成功した。この方法によれば選択的な切断なしで目的物を安定に分離することができる。

このように斎藤君の研究は微量ポリペプチドの生化学的な合成に新しい道を開いたものとして有意義であり，理学博士の学位論として十分価値あるものと認める。