



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | リポ蛋白リパーゼに関する分子生物学的研究   |
| Author(s)    | 千田, 一貴   |
| Citation     | 大阪大学, 1988, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/36471">https://hdl.handle.net/11094/36471</a>  |
| 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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|         |   |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | せん 田 一 貴  |
| 学位の種類   | 工 学 博 士   |
| 学位記番号   | 第 8416 号  |
| 学位授与の日付 | 昭和 63 年 12 月 26 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  | リポ蛋白リバーゼに関する分子生物学的研究  |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 二井 將光<br>(副査) 教授 高野 光男 教授 岡田 弘輔 教授 菅 健一<br>教授 大嶋 泰治 教授 吉田 敏臣 教授 山田 靖宙 |

### 論文内容の要旨

リポ蛋白リバーゼ (LPL) は、末梢血管内壁に存在し、カイロミクロンや超低比重リポ蛋白にあるトリアルギセリドを加水分解する酵素である。1943年、Hahn により“血液清浄因子”として発見されて以来、本酵素に関し生化学的、生理学的に多くの知見が得られている。しかし、分子生物学的あるいは、遺伝子レベルでの研究は、数少ないのが現状であった。本研究では、はじめて本酵素の遺伝子レベルでの解析に取り組んだ結果、ウシおよびヒトの LPL の cDNA のクローニングに成功した。これらの cDNA より塩基配列を決定し、一次構造を推定した。さらに、ヒト LPL の cDNA を用いて、動物細胞において、活性型組換え LPL を、発現分泌させることができた。

第 1 章では、ヒト LPL の cDNA を得る目的のために、その配列に相同性があると想定されるウシ LPL の cDNA のクローニングに必要な情報を得ることよりはじめた。ウシ LPL が乳汁中に多く存在することに着目し、ウシ・スキムミルクより、ヘパリン・アガロース疎水クロマトグラフィーを用いて、单一蛋白にまで精製した。この精製標品を用いて、アミノ末端および内部由来のペプチミドのアミノ酸配列を決定した。

第 2 章では、前章で得た配列をもとに、合成 DNA プローブを作製し、ウシ乳腺由来の mRNA の cDNA ライブラーをスクリーニングした。その結果、全構造遺伝子を含むクローンを得た。dideoxy 法により決定した全塩基配列より推定したウシ LPL は、2 カ所の糖付加部位を持つ 450 アミノ酸残基より成る親水性蛋白であった。

第 3 章では、ここで得たウシ LPL cDNA をプローブとして、ヒト胎盤由来の mRNA の cDNA ライブラーをスクリーニングした。その結果、全構造遺伝子を含むヒト LPL cDNA のク

ローンを得た。これより推定されるヒトLPLは、448アミノ酸残基より成る親水性蛋白であった。ウシLPLとの相同性は、アミノ酸レベルで92%，塩基配列では、80%であった。

第4章では、ヒトLPL cDNAの構造遺伝子部分と分泌型発現ベクターを用いLPL発現プラスミドを構築した。このプラスミドをプロトプラスト融合法により、動物細胞に導入した結果、高比活性のLPLを発現分泌する株を得た。

以上の研究によってLPLの工業的生産が可能となった。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は末梢血管内壁に存在しリポ蛋白の代謝に関するリポ蛋白リバーゼ(LPL)の遺伝子をヒトおよびウシよりクローニングし、マウスミエローマ細胞において分泌生産させる系を確立した。すなわちLPLの生産の基礎を確立したものである。成果の中には次の重要な知見が含まれている。

- (1) ウシ乳腺のmRNAからクローニングしたLPL cDNAは、450アミノ酸残基からなる親水性蛋白質をコードしていることを明らかにしている。また、ヒト胎盤のmRNAからクローニングしたcDNAは、448アミノ酸残基からなる親水性蛋白質をコードしていることを明らかにしている。ウシとヒトのLPLのアミノ酸配列は92%相同であることを示している。また両LPLの脂質結合領域を同定し、リバーゼ活性をもつ酵素群が1つのファミリーを形成し、アミノ酸配列が進化の過程でよく保存されていることを示している。
- (2) ヒトLPL cDNAの構造遺伝子部分と分泌型発現ベクターとを組合せ、LPL発現分泌プラスミドを構築している。このプラスミドをマウスミエローマ細胞に導入し、高比活性のLPLを分泌させることに成功している。用いたミエローマ細胞は浮遊型細胞であり、今後ヒトLPLの工業レベルでの大量生産が可能となった。

以上のように本論文は、細胞工学ならびに医薬品工業に対して貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。