



Title	Pure Human Inactive Renin : Evidence that native inactive renin is prorenin
Author(s)	東森, 浩一
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37441">https://hdl.handle.net/11094/37441</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">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名・（本籍）	ひがし 東	もり 森	こう 浩	いち 一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 3 0 6	号	
学位授与の日付	平成 2 年 8 月 8 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	Pure Human Inactive Renin: Evidence that native inactive renin is prorenin (ヒト胎盤由来不活性型レニンの完全精製と構造解析－不活性型レニンがプロレニンであることの直接証明)			
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男			
	(副査) 教授 谷澤 修 教授 矢内原 千鶴子			

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

cDNA の塩基配列よりヒト腎レニンのアミノ酸配列が、その前駆体も含め明らかになって以来、血中及び組織中の不活性型レニンがレニン前駆体、いわゆるプロレニンであるという間接的証明が種々報告されているが、不活性型レニンそのものの蛋白一次構造解析による直接証明は未だなされていない。本研究はヒト胎盤の滑平絨毛膜及びその培養液を出発材料とし、ヒト腎レニンに対するモノクローナル抗体を用いたイムノアフィニティカラムにより、ヒト胎盤由来不活性型レニンの精製を行い、そのアミノ末端の一次構造を解析することにより不活性型レニンがプロレニンであることを直接的に証明することを目的とした。

### 〔方 法〕

- ① 滑平絨毛膜の不活性型レニンは、硫安分画・Affi-Gel blue・Sephadex G-150・Sephadex G-100・Pepstatin Sepharose 及びヒト腎レニンに対するモノクローナル抗体をProtein A-Sepharose に couple させたイムノアフィニティカラムの 6 段階の操作によって精製した。
- ② 細胞培養液中の不活性型レニンは、硫安分画・QAE-Sephadex・Affi-Gel blue 及びイムノアフィニティカラムの 4 段階にて精製した。
- ③ 精製した不活性型レニンは、Vydac C-4 カラムを用いた逆相 HPLC による脱塩後、アミノ酸 sequencer にてアミノ末端のアミノ酸配列を 12 残基まで解析した。
- ④ 精製した不活性型レニンの分子量は SDS-PAGE 及び Sephadex G-100 により、等電点は disc gel を用いた等電点電気泳動により決定した。またトリブシン処理による活性化の後、ヒト及び羊のレニン基質に対する至適 pH・Km の解析も行った。

## 〔結 果〕

815 gr の滑平絨毛膜から、14.4%の収率、72万倍の精製倍率で2.5  $\mu$ g の純粋な不活性型レニンが得られた。また850 mlの細胞培養液からは、40%の収率、3100倍の精製倍率で174  $\mu$ g の純粋な不活性型レニンが得られた。滑平絨毛膜の不活性型レニンは、分子量47,000、レニン活性は全く持たず、ペプスタチンカラムを素通りした。また等電点電気泳動では、主要なピークをpH 6.49, 6.24, 5.96に認めた。細胞培養液中の不活性型レニンは、分子量は同じ47,000ながら、一部レニン活性を持っており、すべてペプスタチンカラムに吸着した。また等電点電気泳動では、主なピークをpH 6.22, 5.98, 5.73 と滑平絨毛膜のそれよりやや酸性側に認めた。しかしアミノ末端のアミノ酸配列は、両不活性型レニンとも Leu-Pro-Thr-Asp-Thr-Thr-Thr-Phe-Lys-Arg-Ile-Phe- であることが確認され、cDNA の塩基配列より決定されたプロレニンのアミノ末端と完全に一致していた。滑平絨毛膜の不活性型レニンをトリプシンで活性化すると、ヒト基質に対する至適 pH $\cdot$ Km は6.0, 2.8  $\mu$ M であり、羊レニン基質に対しては6.0と7.5, 0.29  $\mu$ M であった。細胞培養液中の不活性型レニンの場合、ヒト基質に対する至適 pH $\cdot$ Km は6.0, 2.6  $\mu$ M であり、羊レニン基質に対しては6.0と7.5, 0.24  $\mu$ M であった。これらはいずれもヒト腎レニンのそれとよく一致していた。

## 〔総 括〕

- ① ヒト胎盤由来不活性型レニンの完全精製に成功し、その生化学的性質を明らかにするとともに、一次構造の解析から本物質がプロレニンそのものであることを直接証明した。
- ② 滑平絨毛膜細胞内及び培養液中に分泌された、いわゆる細胞外の不活性型レニンは、分泌前後でその生化学的性質が異なっているが、この差は蛋白のプロセッシングによる一次構造の変化によるものではなく、活性基を一部表面に露出させるような立体構造の変化あるいは糖鎖修飾の差に起因することが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、不活性型レニンが活性型レニンの前駆体(プロレニン)であることを明らかにするために行われたものである。近年、遺伝子工学の進歩を踏まえて、レニンをめぐる研究は飛躍的に進歩したが、不活性型レニンをめぐる問題は依然として多く残されている。その第一の原因は血中及び組織中の含量が少ない上に、精製の途中で容易に活性化されてしまうことにあった。本研究はこれらの困難を克服し、効率良く完全精製を行うと同時に、得られた微量の精製物を用いてアミノ末端の一次構造解析を行い、不活性型レニンがプロレニンであることを直接証明した。

本研究は今後不活性型レニンの生理的意義を解明する上において大きな意義を有し、学位の授与に値すると認める。