

Title	Studies on Overexpression of Interleukin-6 gene in Escherichia coli
Author(s)	安枝, 寿
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38536
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	安 枝 寿
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 9 8 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 5 年 12 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Studies on Overexpression of Interleukin-6 gene in <i>Escherichia coli</i> (インターロイキン 6 遺伝子の大腸菌における 高発現化に関する基礎的研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 小 川 英 行 (副査) 教 授 谷 口 維 紹 教 授 森 田 敏 照

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、外来遺伝子としてインターロイキン 6 (IL-6) の大腸菌における効率的な遺伝子発現に関する基礎的解析及びその量産化への展開を報告している。特に、本 IL-6 遺伝子発現系に対する新規な遺伝的改変による高発現化の達成、その現象に関わる分子論的機作の解析、また、翻訳開始コドンに由来し、産生される遺伝子産物のアミノ末端に残存するイニシエーターメチオニン (Met) の除去反応について論じ、更に IL-6 自体の C 末端領域における構造機能相関についてもふれている。

本論文で明らかにした点は、まず第一に、本研究以前において、大腸菌を宿主とした遺伝子組換え法で全く量産化の見込みがなかった IL-6 を、その発現系の遺伝的改善により過剰生産させることが可能であることを明確にした点である。宿主大腸菌内で発現様式の解析により、IL-6 mRNA の翻訳が IL-6 発現の律速段階となっていることを見いだした。そこで、この点を改善するために、多重シャイン・ダルガーノ (SD) 配列の導入、転写産物の高次構造形成回避の為のコドン選択等を行った。その結果、IL-6 は大腸菌内に封入体を形成し、菌体蛋白質の約 20% 程度まで産生させることが可能となった。この高発現化に関わる機作を詳細に解析した結果、導入した多重 SD 配列は、実質的に IL-6 mRNA の翻訳効率を上げる様に機能すること、更にこの増強された翻訳反応は転写効率にも作用を及ぼし転写量の増大をも誘起し、その結果、両者の相乗効果により飛躍的に IL-6 遺伝子発現量が増大したことが明らかになった。

次に、著者は大腸菌内での産生遺伝子産物のアミノ末端に残存するイニシエーター Met の除去過程について研究し、メチオニル・ヒト IL-6 からの Met 切除には、大腸菌内酵素であるアミノペプチダーゼ P (Ap-P) の作用が有効であることを見だし、その効果を *in vitro* のみならず、*in vivo* においても確認した。この結果、著者は成熟型ヒト IL-6 の大腸菌での量産化を達成し、更に本 IL-6 発現系の構築は将来の IL-6 医薬品化への道を開いた。

第三に、マウス IL-6 の高発現系を構築し、また、そのアミノ末端 Met の除去方法についても検討した。その結果、N 末端構造として Met-Phe-Pro- 配列を有するメチオニル・マウス IL-6 からの Met 切除にはアミノペプチダーゼ M が有効であることを詳細な構造解析により明らかにした。

更に、本研究の成果として量産化できた IL-6 を用いて、そのカルボキシル末端領域の構造と機能の相関について解析を行い、その結果、IL-6 ポリペプチドの182位、183位近傍での正荷電と181位近傍での α ヘリックス構造が、IL-6 の機能発現に重要であることを示唆する結果を得た。

論文審査の結果の要旨

大腸菌で量産出来なかったインターロイキン6を、二重のシャイン・ダルガーノ配列の導入と、mRNA の高次構造形成を回避させる塩基配列の採択によって、菌体蛋白質の約20%に産生させた。またこの蛋白質のアミノ末端に残る fMet の完全除去にアミノペプチダーゼ P が細胞中でも有効であることを発見した。これらの方法論は遺伝子の発現制御機構の理解に貢献するもので、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。