The University of Osaka Institutional Knowledge Archive

| Title | 昆虫細胞を用いたヒト型インターフェロンの作製とその生成物の多様性及び糖鎖の構造解析 |
|---|---|
| Author(s) | 杉山, 憲司 |
| Citation | 大阪大学, 1995, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/39456 |
| 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

【7】

| | |
|---|---|
| 氏名 | 杉山憲司（すぎやまけんじ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（薬学） |
| 学位記番号 | 第 12076 号 |
| 学位授与年月日 | 平成7年9月5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 | 昆虫細胞を用いたヒト型インターフェロンの作製とその生成物の多様性及び糖鎖の構造解析 |
| 論文審査委員 | (主査)<br>教授 岩田 宙造<br>(副査)<br>教授 三村 務　教授 今西 武　教授 北 泰行 |

# 論文内容の要旨

インターフェロンは1957年に最初に抗ウイルス作用を持つ物質として発見され，現在ではいくつかの異なった種類のタンパク質に分類されている。即ち大きく分類して，白血球型インターフェロン（IFN－$\alpha$ 及び IFN－$\omega$）と繊維芽細胞インターフェロン（IFN－$\beta$）をI型インターフェロンとして，また免疫インターフェロン（IFN－$\gamma$）をII型として2つのタイプ存在している。これら生物学的に非常に興味のあるインターフェロンを天然に非常に近いかたちで大量に合成することは，生物学的にも臨床学的にも非常に重要であると考えられる。

インターフェロンファミリーのうちで，ヒトのリンパ球よりI型インターフェロンに属する IFN－$\alpha$ 2c及び IFN－$\omega$1 の遺伝子はすでにクローニングされており，それぞれの糖鎖の修飾部位及びその構造は明らかにされていることから，著者は昆虫細胞系を用いて IFN－$\alpha$2c及び IFN－$\omega$1 を大量に発現させ，その生理活性及び糖鎖の構造の解析を行った。その結果，互いに天然型に比較して糖鎖の構造は単純であったにしても最終的な構造には大きな問題は認められなかったが，抗ウイルス活性の点では違いが認められた。

昆虫細胞由来 IFN－$\alpha$2c は大部分が糖鎖の修飾を受けておりトリプシン分解の結果より，天然型 IFN－$\alpha$2 同様に106番目のスレオニンが糖鎖の修飾を受けていることが示された。天然型 IFN－$\alpha$2 の糖鎖は Gal－GalNAc ユニットを有しており，この点は昆虫細胞由来 IFN－$\alpha$2c でも全く同じ結果が得られたが，天然型ではシアル酸が存在するのに対して昆虫細胞系ではシアル酸の付加は認められなかった。さらに，副生成物として糖鎖の修飾を受けていないものが得られており，そのうちの30％は Glu－C 分解による解析からC末端のアミノ酸の一部が欠如していることが明らかとなった。しかしながら，昆虫由来 IFN－$\alpha$2c は天然型 IFN－$\alpha$2 と全く同じレベルの抗ウイルス活性を有しており，糖鎖の構造は生物学活性には深く関与していないと考えられる。

昆虫細胞由来 IFN－$\omega$1 は約50％が糖鎖の修飾を受けており IFN－$\alpha$2c の場合と同様にトリプシン分解の結果より78番目のアスパラギン酸が糖鎖の修飾を受けていることが明らかになった。50％のみが糖鎖の修飾を受けていたが，この割合はウイルスの感染及び細胞の培養条件を変えても大きな差異は見られなかった。また，C末端の9個のアミノ酸の欠如が観察されているが，同様の結果はCHO細胞を用いて作成した IFN－$\omega$1 でも得られており，この系特

有ではないと考えられる。天然型 IFN－ω1 と比較して最も大ききな相違点は，糖鎖の構造が単純になっている点があげられる。生物学活性が低いのは，CDスペクトル及び蛍光スペクトルによる解析から3次元構造に差異が見られないことから，糖鎖の複雑さが生物学活性に大きく寄与していると考えられる。

以上のように糖鎖の構造が生物学的活性に重要な場合はこのバキュロウイルス発現系は有用とは言えない可能性が示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

インターフェロンは臨床の場においてC型肝炎の治療に広く用いられており，大量に合成できることが期待されている。

本論文は，昆虫細胞系を用いてI型インターフェロンに属する2種，即ち IFN－α2c および IFN－ω1 を大量に発現させ，その糖鎖の構造解析を行いD－結合グリカンを有する IFN－α2c を得糖鎖の構造を決定し，N－結合グリカンを有する IFN－ω1 については糖鎖の3次元構造を確認した。しかし，抗ウイルス活性については IFN－α2c は活性したが，IFN－ω1 では低い活性であった。以上の様にインターフェロンの大量合成の可能性を示すと共に糖鎖の構造と生物学的活性との相関生について興味ある結果を示すことができた。

以上の結果は，薬学博士の学位請求論文として価値あるものと認める。