



Title	組換え型生理活性タンパク質の評価と改造
Author(s)	多田, 宏子
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39606">https://hdl.handle.net/11094/39606</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	多 田 宏 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (工学)
学 位 記 番 号	第 1 2 1 4 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 11 月 7 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	組換え型生理活性タンパク質の評価と改造
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 大嶋 泰治 教 授 ト部 格 教 授 今中 忠行 教 授 菅 健一

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、組換え型ヒトインターロインキ2およびヒトリンホトキシンの、生理活性タンパク質としての評価と、タンパク工学的方法による二重特異性抗体の創成に関する研究成果をまとめたものである。

緒言では、本研究の背景と目的および意義を述べ、本研究の概略をまとめている。

第1章では、大腸菌で生産させた糖鎖非結合型の組換え型ヒトインターロインキ2が、ヒト末梢血白血球由来の糖鎖非結合型インターロインキ2と同等の生物学的活性を有することを確認している。また、従来のインターロインキ2についての生物学的定量法に改良を加え、ラジオアイソトープを使用しない簡便な生物学的定量法を確立している。

第2章では、多くの生物学的測定法の問題点である、測定に対する妨害物質が多く所要日数が長すぎるという欠点を克服するために、酵素免疫測定法を検討している。すなわち抗ヒトリンホトキシンモノクローナル抗体を用いる酵素免疫測定法を確立し、従来の生物学的活性測定法よりも、特異的で迅速なヒトリンホトキシンの定量を可能としている。

第3章では、ハイブリッド-ハイブリドーマ法を用いて、第2章で作製した抗ヒトリンホトキシンモノクローナル抗体を改造し、リンホトキシンと西洋ワサビペーオキシダーゼとを同時に認識する二重特異性モノクローナル抗体を作製している。さらに、この二重特異性抗体を応用して一段階酵素免疫測定法を開発し、第2章で示した方法よりさらに簡便で迅速なヒトリンホトキシンの定量を可能としている。また、ハイブリッド-ハイブリドーマが產生する抗体分子種を解析し、期待される10種のハイブリッド抗体分子種が全て產生され、求める二重特異性抗体収量がその全抗体の34%であることを示している。

第4章では、遺伝子工学的方法により、マウス/ヒト-キメラ型の抗ヒトフィブリン-抗ウロキナーゼ二重特異性モノクローナル抗体を作製し、このキメラ抗体がウロキナーゼの血漿塊溶解能を増強することより、血栓症の治療薬としての有用性を示している。

総合考察では、以上の結果を総括するとともに、生理活性タンパク質、特に抗体を材料とする新規有用タンパク質創成の今後の展望を述べている。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では、近年の遺伝子工学および細胞工学の発展を背景に、生理活性タンパク質の定量法を改良し、また汎用性の高い二重特異性抗体の製作を試み、その有用性を示している。その主な成果は以下の通りである。

- (1) 大腸菌で生産させた組替え型ヒトインターロイキン2が、天然型インターロイキン2と同等の生物学的活性を有することを確認すると共に、インターロイキン2の生物学的定量法に改良を加え、ラジオアイソトープを使用しないで、テトラゾリウム塩による簡便な生物学的発色定量法の確立に成功している。
- (2) マウス抗ヒトリンホトキシンモノクローナル抗体を作製し、これを酵素免疫測定法に基づくヒトリンホトキシン定量に応用している。この方法は、生物学的活性測定法と比較して、特異的かつ迅速で、しかも生物学的活性測定法と高い相関性を示すことを確認している。さらにハイブリッドーハイブリドーマ法により、抗ヒトリンホトキシンモノクローナル抗体を改造し、ヒトリンホトキシンと西洋ワサビペーオキシダーゼの双方に同時に結合しうる新規な二重特異性モノクローナル抗体を作成し、上記よりもさらに簡便で迅速な、一段階酵素免疫測定法によるヒトリンホトキシン定量法を考察している。
- (3) 遺伝子工学的方法により、血栓の主成分であるフィブリンと血栓溶解剤であるウロキナーゼに同時に結合するマウス／ヒト－キメラ型の二重特異性モノクローナル抗体を作製し、このキメラ型抗体がウロキナーゼの血栓溶解能を増強することから、血栓症治療薬としての実用性を示している。

以上のように本論文では、生理活性タンパク質の定量法と、タンパク質工学的方法による新規な二重特異性抗体の作製を試み、その実用性を実証している。これらの成果はタンパク質工学の発展に寄与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。