



Title	人工抗原を用いた沈降反応機構の解析
Author(s)	野間, 雄朔
Citation	大阪大学, 1959, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28218
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 >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 23 】

氏 名・(本籍) 野 間 雄 朔
 学位の種類 医 学 博 士
 学位記番号 第 5 5 号
 学位授与の日付 昭 和 34 年 6 月 30 日
 学位授与の要件 医 学 研 究 科 病 理 系
 学位規則第 5 条第 1 項該当
 学 位 論 文 題 目 人 工 抗 原 を 用 い た 沈 降 反 応 機 構 の 解 析
 (主 査) (副 査)
 論 文 審 査 委 員 教 授 天 野 恒 久 教 授 藤 野 恒 三 郎 教 授 奥 野 良 臣

論 文 内 容 の 要 旨

1. 目 的

Oudin, Ouchterlony 等によって発展せられた寒天内沈降反応は抗原抗体系の免疫学的均一性の検定や抗原標品の同定等の目的には、すぐれた実験手段であるが次の諸点に就き尚詳らかにする必要がある。即ち、(1) 特異性が等しくて分子量だけ異なる様な二種の抗原の混合系がその特異抗体に対して二本の沈降線を生じ得るか。(2) 均一な一般天然抗原に対する抗血清中には抗原分子内各決定群に対応する多くの特異抗体が含まれると考えられるにも拘らず抗原と唯一本の沈降線を生じるのは、抗体が全部同じ特異性を持つためなのか或ひは特異性の異つた抗体の混合物であって併も一体の沈降線を生じるものであるのか。此の点を明らかにするためのモデル実験として、

①Dinitrophenyl 基を数種の分子量の異なる蛋白に配結させた人工抗原と抗 D 血清との反応、②二種の決定基を導入した人工抗原とそれぞれの特異抗体の混合物との関係、に就て沈降反応機構の解析を試みた。

2. 方 法

次表の如き特異性人工抗原を調製した。免疫抗原は決定基を異なる蛋白に配結したものの組合せを選び Ouchterlony の寒天内沈降反応平板法及び Kabat, Heidelberger の術式による定量沈降反応を施行した。

配結蛋白↓ 決定基→	単 一 特 異 性 人 工 抗 原			二重特異性人工抗原
	D N P 基	Atoxyl 基	R 基	A 基 D 基 R 基
抗デフテリアT成分 馬血清アルブミン 家兎血清アルブミン 卵白アルブミン	D T D H D.r.s.Alb※ DEa	A T D T AEa ※	 R.r.s.Alb※	DAT, ADT, DAH, RDH,

DNP基 : Dinitrophenyl基 Atoxyl基 Atoxyl azo基 R基 : R-salt azob iphenylazo基

※ は免疫抗原に使用

3. 結 果 I) DT, DH, DEa と抗D血清との関係

(A) 寒天内沈降反応平板法で抗D血清の周囲にDT, DH, DEa をセットすると各々一本宛の沈降線を生じるが、相隣なる沈降線はそれぞれ融合を以て連なった。

(B) DT:DEaを0:1, 1:4, 2:3, 3:2, 4:1, 1:0と比を変えて混合したものを抗D血清の周囲にセットすると、融合を以て連なる唯一本の沈降線しか出現しなかった。

(C) 定量沈降反応では、各抗原による抗D抗体沈降量は略等しかった。

II) DAT, ADT, DAH, RDHと抗D, 抗A血清との関係。

(A) 寒天内沈降反応平板法で、DAT を例にとる DAT—抗D 及びDAT—抗A の両沈降線は各々一本で融合を以て連なり、DAT—抗D と DT—抗D 或ひは DAT—抗A と AT—抗A とは spur を以て或ひは融合を以て連なる。

(B) 抗D:抗Aを1:0, 4:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:4, 0:1の割合に混合して例えばDAHの周囲にセットすると融合を以て連なる唯一本の沈降線を得た。

(C) DAT に対して正常家兎血清にて次表の如く稀釈した抗D, 抗A単独血清及び混合血清をセットし、各抗血清—抗原間隔に対する抗血清沈降線の距離の割合 (p) と最初に沈降線を確認した時間 (t) は次表の通りである。

抗D	p	t	抗A	p	t	抗D, 抗A	p	t
× 1	0.35	2 4				× 1	0.36	2 4
× 2	0.31	4 8	× 8	0.20	7 2	× 2, × 8	0.29	1 8
× 4	0.30	4 8	× 4	0.24	4 8	× 4, × 4	0.35	1 8
× 8	0.25	4 8	× 2	0.30	4 8	× 8, × 2	0.28	1 8
			× 1	0.35	2 4	× 1	0.34	2 4

(D) DAH を例にとって抗D 抗A混合血清と定量沈降反応を行わせ、その上降試験を DAH, 或いは抗D, 抗A若しくはその混合血清で行う場合、抗体過剰, 抗原過剰が共に認められる様な領域はなく

(E) 抗原過剰試験を抗D, 抗A若しくはその混合血清で行うと同一試験管から (+) が始った。

(F) 抗D:抗Aを1:0, 3:1, 2:1, 1:1, 1:3, 0:1の割合に混合した血清に就てDAHにて定量沈降反応を行い、沈降抗原1分子当りの沈降抗体分子数の抗体過剰域極限值を求めたが、それぞれ 5.7 6.3 7.5 6.3 5.4 3.9 であった。

5. 総 括

(1) 寒天内沈降反応では特異性が同じで分子量だけ異なる様な抗原を区別できず、この抗原の混合系は特異血清に対して唯一本の沈降線を生ず

(2) 寒天内沈降反応では二重特異性抗原に対して各特異血清の混合系は一本の沈降線が生じない。又定量沈降反応上清試験でも均一系と同じ様な結果を得た。一般天然蛋白に対する抗体も多くの特異性の異なる抗体を含むと考えられつつある今日、人工的に2種類の決定基群を導入した抗原とその抗体系を均一天然蛋白の抗原抗体系のモデルとして考察を試みた。

論文の審査結果の要旨

Oudin, Ouchterlony 等によって発展せられた寒天内沈降反応は抗原抗体系の免疫学的均一性の検定の目的にはすぐれた実験手段であり、単一分子抗原とその抗体との反応では唯一本の沈降線を、複合系においてはその系の数に応じた沈降線を生じる。

著者は、次の二つの場合にどの様に沈降線を生じるのか尚不明であるので人工抗原を使ってそれぞれ解析を試みた。

(1) 各反応系の抗原分子量は各沈降線の位置を決定する因子の一つであるので、分子量の異なる数種の均一蛋白に同じ特異性決定基をそれぞれ導入した人工抗原の混合物と、その特異血清との反応を検討したが、唯一本の沈降線を得た。この理由は分子量の異なる各抗原が同一格子に組入れられるからである。

(2) 均一系天然蛋白抗原抗体系では唯一本の沈降線を生じるのは、その抗血清が特異性の等しい唯一種類の均一な抗体を含むからであるのか、又は何種類もの特異性抗体を含むにも拘らず唯一本の沈降線を生じるものであるのか、この点を調べるために二種類の特異性決定基を導入した二重特異性人工抗原と、別々に調製した各特異抗血清の混合血清との反応を行わせたが、唯一本の沈降線を得た。この理由を定量沈降反応上清試験をも併行して検討したが、この反応系では二種類の抗体分子が同じ格子に組入れられ而も一定の抗原量に対して唯一つの当量点を持つために唯一種類の沈降物を作るからである。

以上 著者の実験は寒天内沈降反応法で唯一本の沈降線を生じる場合に就て深い考察と明解な解析を加えたものであり、一般天然蛋白の分子内抗原性が漸く問題になりつつある今日、免疫学の進展に寄与した点大なるものと考ええる。