Osaka University Knowledge Archive

Title	抗パパイン抗体の免疫化学的性質
Author(s)	中島, 松一
Citation	大阪大学, 1965, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28742
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【41】

氏　名・(本籍)	中　島　松　一（なかしま しょういち）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　6 9 4　号
学位授与の日付	昭和40年3月26日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**抗パパイン抗体の免疫化学的性質**
論文審査委員	(主査) 教授 山村 雄一　(副査) 教授 坂本 幸哉　教授 天野 恒久

論文内容の要旨

〔目　的〕

一般に，酵素を抗原とした場合これに対する抗体は，抗原である酵素の活性を特異的に阻害する。この場合蛋白分解酵素を抗原として用いるならば，これに対する抗体は抗原である蛋白分解酵素の阻害剤であると同時に，基質にもなり得るはずである。Porter によりγ—グロブリンに対するシステイン，EDTA活性化パパインの態度が明らかにされて以来，パパインが広く抗体の分解に用いられる様になった。そこで著者はパパインを抗原として，これに対する抗体がパパインに対してどの様な挙動を示すか調べた。又，リボヌクレアーゼ，タカアミラーゼA，ノイラミダーゼ等の場合，抗体による酵素活性の阻害が基質分子の大きさによって異なることが報告されているので，この点について検討を試みた。また，パパインの —SH 化合物による活性化機構と青酸による活性化機構が異なることが報告されているのでこれに関して免疫化学的な検討を試みた。

〔方法並びに成績〕

ウサギに未処理パパイン（結晶パパインを水に溶かしたもの）を Freund の complete adjuvantと共に筋注，週一回，三週間続け計 6 mg のパパインを注射した。最後の注射より 2 週間後に全採血し得られる抗血清より硫安沈澱法により抗パパインを調製した。この様にして得られる抗パパインと未処理パパインとで Ouchterlony の寒天ゲル内沈降反応を行なったところ一本の沈降線が得られるので用いた未処理パパインは免疫化学的に単一と思われる。そこで塩化第二水銀不活性化パパインと抗パパインで定量沈降反応を試みた。当量点での抗体—抗原のモル比（Ab/Ag）は，抗原が種々の型（monomer，dimer 又は Hexamer）で存在するので算出できない。しかし一応抗原を dimer（M. W. 40,000），抗体の M. W. を 160,000 と仮定してそれを計算すると当量点では 2.15，抗体大過剰でのそれは 3.2 となる。次に未処理パパインとの定量沈降反応を行なうと典型的な沈降曲線が得られ

た。一旦沈降物を形成させた後，EDTA，システインを加え沈降物中又は soluble complex 中のパパインを活性化すると抗原量の多い方から順に沈降物が消失する。予め活性化したパパインを抗原としても抗原量の少ない領域で一旦沈降物の形成がみられる。

以上の様に抗パパインもパパインにより分解されるのであるが，この様に分解を受けたフラグメントがパパインに対してどの様な態度を示すか調べた。Porter の条件で抗パパインをパパイン分解しCM—セルローズカラムにかけると F—Ⅰ，F—Ⅱ，F—Ⅲに相当する画分が得られた。一方，抗パパインを Nisonoff の方法でペプシン分解してもF—Ⅰ，F—Ⅱ，F—Ⅲなる画分が得られた。ペプシン分解物 F—Ⅰ，F—Ⅱパパイン分解物F—Ⅰ，F—Ⅱを用いてパパイン—抗パパイン系の沈降反応の阻害を試みた。その結果，阻害能に関してはペプシン分解物>パパイン分解物，なる関係が F—Ⅰ，F—Ⅱそれぞれについて成立している。パパイン分解物の場合 F—ⅠとF—Ⅱにパパインの酵素活性が認められたので，抗パパインを分解する目的で加えたパパインが F—Ⅰ，F—Ⅱと共に CM—セルローズカラムより溶出されるらしい。又ペプシン分解物を用いてパパイン活性の阻害を調べたところ活性の阻害能に関しては F—Ⅰ>F—Ⅱであった。

次に基質分子の大きさを変えて抗体による酵素活性阻害を調べた。カゼインを基質とすると90%以上の阻害がみられるのに対し，ベンゾイルアルギニンアミドを基質にすると20%程度の阻害しか認められない。又カゼインを基質として青酸活性化パパインと，システイン活性化パパインの抗体による阻害の程度を比較したがいずれの場合も同程度阻害されたのでこの様な方法では両者の差が見出せない。

〔総　　括〕

〔Ⅰ〕 抗パパイン抗体は，塩化第二水銀不活性化パパイン，未処理パパイン，活性化パパインのいずれとも沈降物を形成する。

〔Ⅱ〕 沈降物中のパパインは，EDTA，システインによって活性化され抗パパインを分解する。

〔Ⅲ〕 パパイン分解を受けた抗パパインフラグメントをCM—セルローズのカラムにかけるとF—Ⅰ，F—Ⅱ，F—Ⅲに相当する画分が得られF—Ⅰ，F—Ⅱにのみパパイン活性を認める。

〔Ⅳ〕 抗パパイン抗体はパパインの基質であると同時に特異的な阻害剤である。

〔Ⅴ〕 基質分子の大きさによって抗体による阻害に差が認められたので両基質に対するパパインの活性中心が同じものとすれば，抗体によるパパイン活性阻害は立体障害によるものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

7 Sγ—グロブリンに対するシステイン EDTA 活性化パパインの態度が明らかにされて以来，パパインが広く抗体 γ—グロブリンの分解に用いられる様になった。

そこでパパイン自身を抗原として，これに対する抗体がパパインに対して，どの様な挙動を示すかを調べている。その結果抗パパイン抗体は塩化第二水銀不活性化パパイン，未処理パパイン，活性化パパ

インのいずれとも沈降物を形成すること，及び沈降物中のパパインを活性化することによって抗パパイン抗体が分解されること等が明らかにされている。更に抗パパイン抗体はパパインの活性を特異的に阻害するが基質分子を小さくすると，その阻害の程度が減少することが証明されている。

以上の様に抗パパイン抗体はパパインの基質であると同時に特異的阻害剤であり，抗体によるパパイン活性阻害は立体障害によると示唆する結果が得られている点で意義深い研究である。