



Title	タカアミラーゼA（TAA）の免疫化学的研究：抗TAA抗体の多様性について
Author(s)	松岡，雄治
Citation	大阪大学，1965，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29008
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	松 岡 雄 治
	まつ おか ゆう じ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 7 3 3 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 4 月 1 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	タカアミラーゼ A (TAA) の免疫化学的研究 —抗 TAA 抗体の多様性について—
論文審査委員	(主査) 教 授 山村 雄一
	(副査) 教 授 天野 恒久 教 授 次田 皓

論 文 内 容 の 要 旨

〔研究目的〕

抗原とそれに対する抗体の反応を解析する際、酵素を抗原とすれば、単に免疫化学的手段だけでなく酵素化学的手段も抗原抗体反応の解析に利用することが出来る。結晶タカアミラーゼ A (TAA) は蛋白質化学的に甚だ均一な物質であり、ウサギやマウスなどに対する抗原性も強く、又抗 TAA 抗体は TAA のアミラーゼ活性を定量的に又殆んど完全に阻害する。このような抗原抗体系を用いれば、抗原抗体反応の解析や抗体蛋白質の諸性状あるいは抗原構造の解析などに甚だ有利と考えられるので TAA の免疫化学的研究を試みた。

〔方法並びに成績〕

方法：結晶 TAA は赤堀らの方法で、タカジアスターゼ三共、より精製した。抗 TAA 抗体は常法従って TAA を Freund の incomplete adjuvant と共にウサギ皮下に投与して得た抗 TAA 血清より Kekwick の法で得た γ -グロブリン分画を用いた。アミラーゼ活性は可溶性澱粉を基質として不破法により、又抗 TAA の抗アミラーゼ活性は岡田らの方法にて測定した。 γ -グロブリンの CM-セルローズクロマトグラフィーによる分画は Palmer らの方法に従い、そのパパインによる分解は Porter の方法にて行なった。

成績： γ -グロブリンを負荷した CM-セルローズカラムから 0.06M, 0.1M, 及び 0.5M の酢酸緩衝液で 3～4 個の分画を溶出することが出来るが、そのクロマト上の挙動は緩衝液の pH に甚だ鋭敏に影響される。又、抗体の特異的精製法の際に、抗原抗体結合物の解離によく用いられるような酸処理 (pH 2～3) を行なうと γ -グロブリンはもはや上記の条件では分画することが出来ず、0.5M pH 5.3 酢酸緩衝液にて一つのピークとして溶出されるようになる。

アミラーゼ活性に対する阻害作用の強さは各分画によって異なり、0.06M 分画, 0.1M 分画, 0.5M 分画の順に、単位蛋白量あたりの阻害活性は強くなる。TAA と沈降可能な抗 TAA 量を測定し、

沈降抗体の示す阻害作用を比較してみると、0.06M 分画よりも 0.5M 分画の方が約 1.5 倍ほど強い阻害作用を示す。従って各分画の示す阻害作用の差異は単に含まれる抗 TAA の量の差によるものではない。

0.06M 分画と 0.5M 分画とをそれぞれ結晶パパインで分解すると、0.06M 分画では大量の Fragment I (F I) と少量の Fragment II (F II) が、0.5M で分画は少量の F I と大量の F II が得られる。酵素活性に対する阻害作用は 0.06M 分画ではパパイン分解により著しく減弱するが 0.5M 分画では分解後も分解前と著しい変化を認めない。以上の事実は 0.06M 分画に含まれる阻害抗体と 0.5M 分画に含まれる阻害抗体とは、それぞれに TAA 分子上の異なった抗原性決定基に対応しており、0.5M 分画中の阻害抗体は TAA の酵素活性中心に、より密接に関係した決定基に対応するものであることを示唆するものと思われる。

細菌アミラーゼ (BA) は、あらかじめ基質である澱粉が存在すると、抗 BA 抗体による酵素活性の阻害がみられないことが報告されているが、TAA では基質のあとに抗体を加えても阻害がみられる。この場合、あらかじめ TAA と Preincubate した際は同じ強さの阻害作用を現わす量の 0.06M 分画及び 0.5M 分画を用いると、0.5M 分画の方により強い阻害作用が認められる。従って 0.06M 分画と 0.5M 分画との阻害作用の差異は単に対応する抗原性決定基の立体的な差異のみを反映するものではなく、その抗原との親和性 (affinity) にも差異があるものと考えられる。

免疫初期のウサギより得た γ -グロブリンには過免疫した際の 1/30~1/60 の弱い阻害活性がみられるが、充分量を加えると過免疫した場合と同様、94%以上の阻害作用がみられる。そして、その大部分は 0.5M 分画中に分布しており、長期間免疫した際には 0.06M 分画や 0.1M 分画中の抗 TAA が相対的に増加している。しかし過免疫したウサギより得た 0.06M 分画と 0.5M 分画とを再混合しても、それぞれの示す阻害活性の和に等しい阻害がみられ、阻害作用の相乗的増強はみられない。従って 過免疫の際には 抗原抗体結合部位に対する抗体が出来て、初期に出来た抗体と抗原との結合を “lock” するために阻害活性が増強するのではないかという、Najjar らや Cinader の推論は、抗 TAA に関する限り妥当しないように思われる。

〔総括〕

結晶 TAA に対するウサギの抗 TAA 抗体を CM-セルロースクロマトグラフィーにより分画し、在分画の示す TAA のアミラーゼ活性に対する阻害作用の差異を検討し、抗 TAA 抗体の多様性や、その阻害作用のメカニズムなどに考察を行なった。

論文の審査結果の要旨

結晶タカアミラーゼ A (TAA) は蛋白質化学的に均一な物質である。ウサギの抗 TAA 抗体は、TAA のアミラーゼ活性をほとんど完全に阻害するが、この抗 TAA γ -グロブリンをさらに幾つかの subfraction に分画することができ、得られた分画は阻害作用その他の点で甚だ異なった性質を示すことが明らかにされた。

このように単一な結晶酵素に対する抗体が、なお多様であることを証明し、異なった抗体 γ -グロブリンとして分離し得たということは抗原抗体反応の解析、ひいては免疫反応全般のメカニズムを解明するために甚だ有益な研究であると考えられる。