



Title	サルモネラ属の鞭毛の抗原構造、鞭毛の一断端に局在する抗原決定群について
Author(s)	土肥, 義胤
Citation	大阪大学, 1974, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31130
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

【3】

氏名・(本籍)	ど	ひ	よし	たね
	土	肥	義	胤
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	3	0	5
		6	号	
学位授与の日付	昭和49年3月25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	サルモネラ属の鞭毛の抗原構造、鞭毛の一断端に 局在する抗原決定群について			
論文審査委員	(主査)			
	教授	天野	恒久	
	(副査)			
	教授	米田	正彦	教授 川俣 順一

論文内容の要旨

〔目的〕

サルモネラ属の鞭毛の抗原性は、Kauffmann らによって、50種以上に系統的に分類されている。分類の符号のそれぞれは、鞭毛上に表在する抗原決定群に対応するものと考えられ、適当な菌種を組み合わせて使用する事により特定の抗原決定群に対する抗体を容易に定量できる点に鑑み、サルモネラ属の鞭毛は蛋白抗原に対する抗体産生機構を、submolecular な抗原決定群の構造と関連づけて追求するのに恰好の材料と考え、まず鞭毛を構成する蛋白質の免疫化学的性状を検討したところ鞭毛蛋白質モノマーには、そのポリマーである鞭毛の表面には把握できない抗原決定群が存在し、それは、g-complex の菌種の鞭毛蛋白質間では共通である事が、示唆された。この決定群について更に検討する為に、鞭毛表面に共通した serotype を持たない二種の菌株を Kauffmann-White scheme 中より選びだして、それらの鞭毛蛋白質の類似性について、検討すると共に、モノマーに共通する抗原決定群が、鞭毛内でどの様に存在するかをフェリチン抗体法を用いた電子顕微鏡的観察から明らかにしようとした。

〔方法ならびに成績〕

I. 抗原フラジェリンの純化とその物理化学的性状：S. oranienburg(6.7; mt: -) 及び S. derby (4.5.12; fg: -) の鞭毛 (Fa^m 及び Fa^{fg}) を、(小林らの方法に従って塩酸を用いて) 脱重合して、鞭毛蛋白質フラジェリン (Fi^m 及び Fi^{fg}) を得、更に、Sephadex G150によるゲル濾過及び DEAE cellulose chromatography により純化精製した。この蛋白質は、8M 尿素を添加した0.375 M TRIS-Cl Buffer pH8.6 の溶媒で、ポリアクリルアミドゲル・ディスク電気泳動を行うと、均一な易動度を示し、PBS を溶媒として測定した沈降図形は単一の山の波形で、その S₂₀=2.8 と測定されたことからこれは純粋なフラジェリン・モノマーであると考えられた。

II. 鞭毛蛋白質抗原フラジェリンに対する沈降抗体の菌運動阻止性：フラジェリン (Fi) は、その家兔免疫血清との間に、アガロース内で一本の沈降線を形成するが、その沈降抗体の少なくとも一部が、菌運動を阻止する事を明らかにする為に、サルモネラ菌の遊走テストに用いられる半流動寒天内で、Fi^{fg}と抗Fi^{fg}血清との間に double diffusion を行つて、一本の沈降線を形成させた後、fg菌の生菌を沈降線に交叉して、線状に inoculate して、菌遊走の zone を観察した。菌遊走の zone は沈降線を境にして、抗原側のみに拡がり抗血清側には全く拡がらず菌運動阻止抗体が沈降抗体中に含まれる事が明らかになった。

III. 抗フラジェリン血清中に含まれ、菌運動阻止に関与しない沈降抗体の存在：

(i) 二種菌株 mt 菌及び fg 菌の鞭毛表在性抗原の非交叉性の確認：mt 菌及びそのフラジェリン (Fi^{mt}) に対する抗血清は mt 菌の運動を阻止するが、fg 菌の運動を阻止しない。一方 fg 菌及びそのフラジェリン (Fi^{fg}) に対する抗血清は、fg 菌の運動を阻止するが、mt 菌の運動を阻止しない。従つて、mt 菌と fg 菌の菌体及び鞭毛の表面には、互に交叉する抗原性は存在せず、この事は、Kauffmann-White によるサルモネラ属の serotype の分類の結果と一致している。

(ii) Fi^{fg}とFi^{mt}との間の免疫学的交叉性の証明：抗Fi^{fg}血清は、ゲル内沈降反応で、Fi^{fg}とのみならず、Fi^{mt}とも反応し、それぞれ一本の沈降線を示すが、両者は互に fuse して、spur 形成はみとめられない。次に定量沈降反応を用いて、同抗血清中の両抗原に対する沈降抗体量を比較するとともに、その上清中の菌運動阻止能の消長を検討した。homologous な抗原 Fi^{fg}は、抗血清 1 ml 中 1.12 mg の抗体を沈降させ、菌運動阻止能を殆んど失わしめたが、hetero. の抗原 Fi^{mt}は、homo. の Fi^{fg} によって沈降する量の約 80% に相当する抗体を沈降させたが、菌運動阻止能は抗原過剰域についても、殆んど変化しない。又抗Fi^{mt}血清について、抗Fi^{fg}血清の場合と全く reciprocal な結果が得られた。従つて Fi^{fg}とFi^{mt}の間には、共通する抗原決定群が存在することが明らかになったが、これらのモノマーに共通する決定群に対する抗体は、菌運動阻止に関与しない。これらは鞭毛をフラジェリンに脱重合する事によって始めて抗体との反応性が、画然と認められる様になった抗原決定群と考えられた。

(iii) Fi^{fg}とFi^{mt}に共通する決定群に対する抗体の量的検討：抗Fi^{fg}血清を fg 菌ホルマリン死菌で吸収し、fg 菌運動阻止能を完全に除いた吸収血清で、Fi^{fg}、Fi^{mt}両抗原による沈降抗体量を比較すると、両抗原に対する最大沈降抗体量には差が認められず、Fi^{fg}の抗原決定群の内、鞭毛に表在する serotype の分類に関する抗原性を除く、すべての抗原決定群が Fi^{mt}分子上に存在する事を意味し、両モノマー間に共通な決定群には差がない事が示唆された。

IV. モノマーに共通な抗原決定群の鞭毛内における所在：上記二種モノマーに共通な抗原決定群の生因について、二つの可能性が考えられる。即ち、(i) 鞭毛をモノマーに脱重合する事により立体構造が変化し、その結果新しく抗原決定群が形成された。(ii) 鞭毛内で、フラジェリン分子間の接触面を構成している部分に抗原決定群が含まれており、鞭毛の脱重合によってそれが溶媒に接する様になった。(i) の可能性を積極的に検討する事は容易ではないので、まず (ii) の可能性に着眼した。即ち、フラジェリン分子間の接触面と同じ構造が鞭毛断端に検出できるか否かを異なった serotype のフラジェリンに対する抗体を用いたフェリチン抗体法により電顕的に検討した。

まず鞭毛 Fa^{Hs} に hetero. の Fi^{ml} に対する抗体を反応させ超遠沈を用いて未反応の抗体を除いた後、次いで、フェリチンと山羊抗家兎 IgG 抗体との結合物を作用させ、再び超遠沈を用いて、未反応の結合物を除いて電顕観察を行うと、70%以上の鞭毛の一端にフェリチン顆粒の cluster が認められ、しかもその顆粒は常に鞭毛の一端のみに見だされ、両端に cluster を持つものはなかった。 Fa^{ml} についても全く同様に、抗 Fi^{Hs} 抗体と反応する抗原性が鞭毛の一端に検出された。以上の事から鞭毛の serotype と関係せず鞭毛をモノマーによる事によって抗体との反応性が始めて画然と認められる抗原決定群が、鞭毛の一端にも露出している事が明らかになった。鞭毛の一端のみにこの様な特異的な抗原決定群が局在する事は、朝倉らの鞭毛の in vitro 再構成の実験で鞭毛の成長が一方におこるという事実と対応するものと考えられる。

〔総括〕

- 1) サルモネラ属 g-complex の菌種の鞭毛を脱重合して得られるフラジェリン・モノマーには、そのポリマーである鞭毛上の serotype と関係しない抗原決定群が存在する。
- 2) その抗原決定群は、g-complex のフラジェリン間で共通である。
- 3) その抗原決定群は、鞭毛の一端に露出している事がフェリチン抗体間接法から明らかにされた。
- 4) その抗原決定群は、鞭毛内で隣接するフラジェリン分子間の接触面にかくれて局在している事が示唆される。

論文の審査結果の要旨

著者は、*Salmonella oranienburg* (6, 7; mt: -) と *S. derby* (4, 5, 12; fg; -) の鞭毛を構成するフラジェリンの抗原抗体反応による解決から、これらの所謂 g-complex に属する菌種のフラジェリンには、鞭毛の表面上にある serotypes に関するものの他に、serotype に関係せず、g-complex に共通する抗原決定群が存在することを明らかにした。しかも、その抗原決定群は、鞭毛の一端にのみ露出していることも、明らかにした。そして、鞭毛の他の部分に於ては、フラジェリンの接触面にかくれていることを推定した。

以上の成績は、鞭毛の構築及び、フラジェリンの抗原構造に、新知見を加えたものである。