



Title	ニワトリ卵白リゾチームとその活性フラグメントに対する抗体産生の研究
Author(s)	小松, 俊憲
Citation	大阪大学, 1974, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/31147">https://hdl.handle.net/11094/31147</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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

【 5 】

氏名・(本籍)	小 松 俊 憲
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 3 2 3 5 号
学位授与の日付	昭 和 49 年 12 月 16 日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ニワトリ卵白リゾチームとその活性フラグメントに対する 抗体産生の研究
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 天野 恒久 教授 浜口 浩三

### 論 文 内 容 の 要 旨

(実験の目的)

タンパク質抗原研究の一環として、すでに新家、藤尾らはニワトリ卵白リゾチーム (HL) よりその抗原決定基部位を含む活性フラグメントを分離し、ウサギ抗HL抗体に対し、これらが反応性を示すこと

を報告した。今回の研究の目的は藤尾らの分離した活性フラグメント Fr. 17  $\left( \begin{array}{c} \text{Lys}^1 - \text{Cys} - \text{Asn}^{27} \\ | \\ \text{Leu}^{129} - \text{Cys} - \text{Ala}^{122} \end{array} \right)$

のウサギに対する免疫原性をしらべ、HLでウサギを免疫したときに示されるHL内のこのフラグメントに相当する部位 (Fr. 17部位) の免疫原性とを比較することにより、分離された活性フラグメントが免疫応答反応に際し、生体内でなされる認識のされかたをしらべることである。

(実験の方法)

活性フラグメント Fr. 17を高度に精製し、混在HLが0.01%以下の標品を得、これをアジュバント (FCA) とともにウサギに免疫注射した。また対照として6回再結晶HLを同様に免疫注射した。これらのウサギより一定期間ごとに採血を行ない、Fr. 17及びHLで感作したヒツジ赤血球 (Fr. 17-E, HL-E) 凝集法 (PHA) ならびに、 $^{125}\text{I}$ -Fr. 17及び $^{125}\text{I}$ -HLの直接結合法によって、Fr. 17及びHLで免疫したウサギ中の抗Fr. 17、抗HL抗体価の経時的消長をしらべた。さらに新家らが分離したFr. 17を構成する2つのフラグメント、

Fr. 9-10-a (Ala<sup>11</sup>-Asn<sup>27</sup>) と Fr. 15-b  $\left( \begin{array}{c} \text{Lys}^1 - \text{Cys} - \text{Ala}^{10} \\ | \\ \text{Leu}^{129} - \text{Cys} - \text{Try}^{123} \end{array} \right)$  を精製し、これらに対する抗Fr.

17抗体及びHLで免疫したときに得られる抗Fr. 17抗体(抗Fr. 17部位抗体)の反応性の相違をFr. 17, Fr. 9-10-a, Fr. 15-b及びHLでそれぞれ感作されたヒツジ赤血球(Fr. 17-E, Fr. 9-10-a-E, Fr. 15-b-E, HL-E)の凝集反応とこれら凝集反応の各フラグメント又はHLによる阻止反応及び、これらの抗体による $^3\text{H}$ -acetyl-Fr. 17の直接結合反応のこれらフラグメント又はHLによる阻止反応等でしらべた。

#### (結果と結論)

Fr. 17で免疫されたウサギ中の抗Fr. 17抗体の消長は、HLで免疫されたウサギ中の抗Fr. 17部位抗体の消長とは、PHAでしらべたときにとくにことなつた様相を示した。即ち、Fr. 17で免疫した場合、抗体価の最高点は免疫初期にあり、以降徐々に低下した。これらの抗血清をセファデックスG 200で分画することにより、免疫初期の高凝集価はIgMグロブリンによりもたらされることがわかつた。また免疫の後期では、IgMとともにIgGグロブリンも産生されていることがわかつた。他方HLで免疫した場合、HL-E凝集価は免疫後の時間とともに上昇した。しかしFr. 17-E凝集価はそれとは無関係の変動を示し、又Fr. 17で免疫した場合のそれともちがつた様相を程した。そしてこの場合は、免疫の初期、後期ともにFr. 17-E凝集はIgMグロブリンによりもたらされることがわかつた。さらに抗Fr. 17抗体は、Fr. 9-10-a及びFr. 15-bとの反応性に於て、Fr. 17部位抗体とは顕著な相違を示した。即ち、Fr. 17抗体はFr. 9-10-aに対し強い反応性を示し、Fr. 15-bに対しては弱い反応性しか示さず、またHLに対してはほとんど反応性を示さなかつた。他方、Fr. 17部位抗体は、Fr. 9-10-aとはほとんど反応性を示さず、Fr. 15-bに対しかなり強い反応性を示した。

以上の実験結果より、ウサギに於ては、単離された活性フラグメントFr. 17はそれがHL中に存在する場合とは異なつた抗原認識を免疫応答反応の過程でなされ、それに対して特異性をもつた抗体が産生されることが判明した。

### 論文の審査結果の要旨

小松俊憲君の研究は、タンパク質抗原認識機構の研究の一環として、ニワトリ卵白リゾチーム(HL)をウサギに免疫注射したときに、免疫応答反応の過程で、nativeのまま識別されるのか、fragmentに分解されてから認識されるのかをしらべる目的で行なわれたものである。

まずHLよりペプシン消化により、抗原決定基を含み免疫学的に活性なfragment Fr. 17を単離し、これを高度に精製してnative HLの混在が0.01%以下、また他のfragmentの混在が1%以下の標品を得た。このfragment Fr. 17標品をウサギに免疫注射して、Fr. 17とFr. 17を構成する2種類のfragment Fr. 9, 10-a, Fr. 15-b及びnative HLに対する抗体価を経時的に追跡した。測定法は感作赤血球凝集反応による方法と、 $^{125}\text{I}$ で標識した抗原の直接結合をみる方法によつた。そしてnative HLで免疫したウサギより得られた結果と上に得られた結果を比較した。更にFr. 17と抗体との反応のこれら各fragment並びにHLによる阻害実験により、HLとFr. 17に対して作られた抗体の特異性

を詳細にしらべた。その結果、Fr. 17で免疫した場合と、native HLで免疫した場合とでは、各 test 抗原に対する特異的抗体産生のパターンが全く異っていることを発見した。つまり Fr. 17に対して作られた抗体の特異性は Fr. 9, 10-aの部分にあり、また native HLに対して作られた抗体の特異性は Fr. 15-b部分にあることがわかったのである。従ってこれらの結果により、native HLはウサギに免疫されたとき、分解されずにそのまま認識されて抗体が作られることが分ったことになる。

以上、小松君の論文はタンパク質抗原の免疫学的認識機構の解明に一つの重要な手がかりを与えるものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。