

Title	腸炎ビブリオ04抗原の構造解析, 及び免疫化学的研究
Author(s)	田中, 節子
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32840
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、 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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	田 中 節 子
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 2 3 4 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 3 月 25 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	腸炎ビブリオ O ₄ 抗原の構造解析、及び免疫化学的研究
論文審査委員	(主査) 教 授 天 野 恒 久 (副査) 教 授 松 田 守 弘 教 授 川 俣 順 一

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

腸炎ビブリオ O 抗原 (LPS) は血清学的に O₁ 群から O₁₂ 群に分類され、各群の構成成分の分析は多くの研究者により報告されている。しかし、各群の免疫特異性は構成成分のみによって示されるのではなく、糖の配列順序、グリコシド結合が重要な役割を果していることを明らかにするために、我々は O₄LPS の構造解析、及びその抗原特異性の研究を行ってきた。

[方法ならびに成績]

O₄LPS、及び多糖画分 (PS) の精製-O₄LPS は常法により加熱菌体より抽出し、さらに PCP 法により精製したものをを用いた。この O₄LPS を 0.1 M 酢酸溶液にして 100°C、11 時間加熱し、不溶化した Lipid A を遠沈で除去後、Bio-gel P₄-10 のカラムを用いて分子量 3,500 の PS を得た。PS の構成単糖はグルコース (Glc)、ガラクトース (Gal)、アラビノース (Ara)、フコース (Fuc)、ヘプトース (Hep)、ガラクトサミン (GalN)、末同定のアミノ糖 (XN) (モル比は 2.7 : 0.7 : 1.1 : 1.0 : 2.4 : 2.0 : 1.0) であった。

酸部分水解—PS を 2 M トリフルオロ酢酸に溶解して 95°C、30 分加熱の処理により、多糖画分 (A₁) として非還元末端に Glc をもつものが得られ、さらに Fuc, Ara が単糖として遊離してきた。

トリフルオロアセトリシス—Svensson 等の方法に従い、PS を処理すると酸部分水解で得られたと同様な多糖画分 (T₁) と単糖 Fuc, Ara、さらに Glc, Gal, Hep からなる 3 つのオリゴマー (T₂P₁, T₂P₂, T₂P₃) が得られた。

過沃素酸酸化—鳥居らの報告の条件に従い、PS の過沃素酸酸化を行った。得られた生成物 (I)

はGalNとXNのみが検出されて中性糖はすべて酸化されていた。

クロム酸酸化—Angyal らの方法に従いPSをクロム酸酸化した。その結果Gal, Ara, GalN, XNが酸化されて単糖組成分析で検出されなかった。クロム酸酸化によってβ結合をもつ糖は酸化されやすいということから, Glc, Fuc, Hepはα結合, Gal, Ara, GalN, XNはβ結合と推定される。

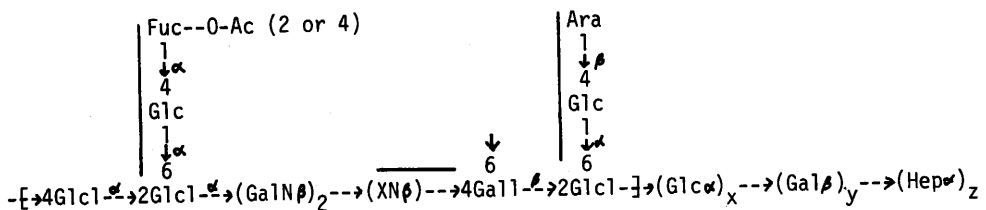
XNの単離—PSに含まれているXNをPSの酸加水分解後イオン交換クロマトグラフィーとペーパークロマトグラフィーにより単離した。単離されたXNはアミノ酸分析計においての保持時間は, GlcNを1.00とすると1.35であり, ペーパークロマトグラフィーでのR_f値は0.56 (GlcNは0.41)を示し, N-アセチル化したXNは0.78を示した。N-アセチル化したXNの¹³C-NMRスペクトラムから3-amino-3, 6-dideoxy-galactoseと推定した。さらにプロトンNMRスペクトラムはこれを示唆している。

O-アセチル基の存在—重水に溶解したPSのプロトンNMRのスペクトラムでは2つのC-CH₃のシグナル, 2つのN-COCH₃のシグナル, 1つのO-COCH₃のシグナルが得られた。さらにPSをナトリウムメトキシドのアルカリ処理によって得られた生成物(MPS)のNMRスペクトラムにおいては, O-COCH₃のシグナルが消えた。PS, MPSをα-フコシダーゼで処理した結果, MPSからFucが遊離してきた。こうした結果からO-COCH₃がFucに局在していることが明らかとなった。

定量沈降反応阻害実験—PSはウサギ抗O4血清とは沈降を示さずO4LPSと抗O4血清との沈降を阻害する活性があった。PSを構成している単糖を阻害物質として沈降阻害実験を行うと中性糖については若干の阻害活性が認められたがGalNについては阻害活性はなかった。メチル化分析からPSに存在するGlcの1→4, 1→6結合をもつオリゴ糖を用いて阻害実験を行った。ここではβ結合よりα結合が, α1→4より, α1→6結合のほうがより強い阻害活性を示した。次いでPSの上記の処理によって得られたフラグメントを阻害物質として実験を行った。阻害活性の強い順にMPS>PS>A₁>T₁>T₂P₃>I>T₂P₁>T₂P₂>XNとなった。XNのみでは阻害活性は認められなかったがグリコシド結合を保持したIにおいて弱いながら阻害活性が認められた。

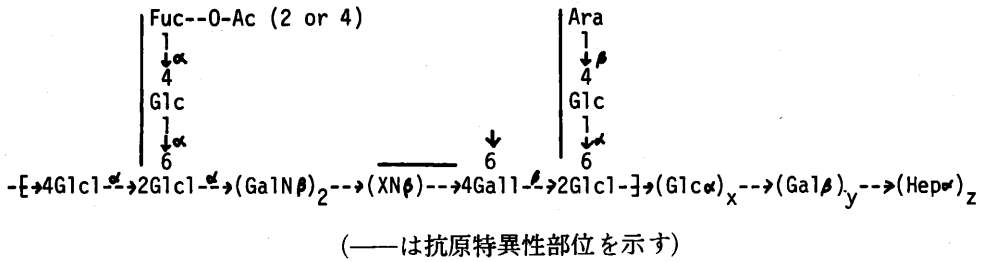
[総括]

O4特異性を示すPSのFucにはO-アセチル基が局在しているがこのO-アセチル基はO4抗原決定基には関与していなかった。非還元末端にGlcが存在するA₁, T₁より, 非還元末端にFuc, AraをもつPSに強い阻害活性が認められた。さらにイソマルトースが強い阻害活性を示し, PS, A₁, T₁には \rightarrow_2^6 Glc1 \rightarrow が存在しているという事実などをふまえてPSに対して下記のような構造様式及びO4特異性の関与の推定を試みた。



論文の審査結果の要旨

本研究は腸炎ビブリオO4群のO抗原から抗原活性のある多糖体を分離し、種々の部分分解法、化学的処理により得られた部分分解物の抗原活性を既知構造物との比較を行い、あるいは¹³C-NMR、H-NMR等による構造推定をも加えてその大まかな構造を下記の如く推定することが出来た。



尚、その間に珍しいアミノ糖も分離し、3-amino-3,6-dideoxy-galactose (XN)であることを推定した。

これらの成果は本領域においては極めてユニークな研究で高く評価できる。