



Title	1H-NMRによるIgG3・Jir蛋白〔G3m (s, t) アロタイプ〕とプロテインAとの結合に関する研究
Author(s)	本澤, 真弓
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33640
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)	ほん 本	ざわ 澤	ま 真	ゆみ 弓
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	第	6	1	1
学位授与の日付	昭 和	58	年	6
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	^1H -NMRによるIgG3・Jir 蛋白〔G3m(s,t)アロタイプ〕とプロ テインAとの結合に関する研究			
論 文 審 査 委 員	(主査)	教 授	岸 本	進
	(副査)	教 授	岸 本 忠三	教 授 山 野 俊雄

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

ヒトIgG3は黄色ブドウ球菌プロテインA(PA)と反応しないと考えられていたが、最近疑問視されている。本研究では、モノクロナルIgG3・Jir蛋白がPAと結合するという特異な性質を見出したので、IgG、L鎖について行なってきたNMRによる研究の知見をもとに、Fc部を解析し、生理的条件下でのIgGとPAとの反応の機構を明らかにすることを目的とした。

(方法ならびに成績)

1) PAとFcフラグメントとの反応

PAとIgG1及び(s, t)マーカーを持つIgG3・JirのFcは、二重拡散法により室温できわめて短時間の反応後、すぐに固定すると、明瞭な沈降線を形成した。アロタイプ(b), (g)を示すIgG3・Gab, Herの場合には、PAとの沈降物は検出されなかった。

一定量のPA-Sepharoseゲルに変化量のFcを加え、IgG3・JirとIgG1のゲルへの結合率を比較した。FabやIgG3・HerのFcはほとんど結合しなかったのに対し、Jir蛋白のFcは、ほぼIgG1同様の高い結合率を示した。

2) Fc部の ^1H -NMRによる分析

Fc 10 mg (pFc 5 mg)を0.2M NaCl重水溶液0.3 mlに溶解し、NaOD, DCIでpH調整後、30°C, 360 MHz (100 MHz)で測定した。

IgG1・YotのNMRスペクトルには化学シフトの7.8~9 ppmに、ヒスチジン(His)側鎖プロトンに由来する6本の分離したピークが認められた。これらはそれぞれIgG1・Fc部の6個のHis残基

に対応する。IgG 3 のアミノ酸配列を IgG 1 と比べると、Fc 部の His 残基に関しては 435 位に相異があり、IgG 3 ではアルギニンである。したがって、IgG 3 では His-435 のシグナルが観察されないはずである。予想通り、IgG 3・Her の Fc は His-435 シグナルを欠いていた。ところが、(s, t) マーカーを持つ IgG・Jir の Fc では、IgG 1 同様、スペクトル中に 6 本の His シグナルが観察され、他の IgG 3 にない Jir 蛋白に特徴的なシグナルが、IgG 1 の His-435 シグナルに相当することがわかった。

このことを PA との結合性と関連づけて考えると、アロタイプ(b), (g)のように (s, t) マーカーを持たず、His-435 シグナルのない IgG 3 は PA と反応しないが、Jir 蛋白のように (s, t) マーカーを有し、His-435 シグナルを持つ IgG 3 や、やはり 435 位に His 残基の存在する IgG 1, 2, 4 が PA と結合することより、PA と IgG との結合に His-435 が重要な役割を果たしていると考えられる。また (s, t) マーカーが His-435 と密接な関係にあることが示唆された。

ポリクロナル IgG 3 のうち、(s, t) マーカーを持つ成分が PA と結合することや、PA のフラグメントと Fc との複合体の X 線結晶解析から、結合面に His-435 が含まれることが報告されている。さらに、G3m(s, t) アロタイプを示し、PA カラムに吸着する IgG 3・Goe 蛋白が、一次構造解析から、435 位に His 残基を持つことが最近明らかにされた。これらは、NMR 分析の成績とよく一致するものである。

IgG 1 と IgG 3・Jir の His-435 シグナルの pH 滴定曲線を比較すると、pFc' フラグメントの場合には両者はまったく重なり、一致した挙動を示したが、Fc フラグメントでは 0.1~0.2 pH ユニットの差が生じた。したがって、IgG 1 と IgG 3・Jir の His-435 は、CH3 ドメイン単独では同じ状況にあるが、Fc フラグメント中に在っては、接近してきた CH2 ドメインの影響を受け、環境が異なることが推測された。

以上のことより、CH2-CH3 ドメインの相互作用、ひいては Fc 部の立体構造の差異が、IgG と PA との結合性や抗(s, t) 特異抗血清との反応性に大きく関与している可能性があり、このような高次構造上の微小な変化を His-435 が敏感に反映していることが示された。また NMR スペクトルの分析から、IgG 1 と IgG 3、アロタイプ(s, t) と non(s, t) とを区別・同定できることがわかった。

(総括)

1. モノクロナル IgG 3・Jir 蛋白が、抗原性からは G3m(s, t) アロタイプを持ち、IgG 1 同様の PA への強い結合能を有することを見出した。
2. ^1H -NMR スペクトルを分析すると、アロタイプ G3m(g) を示す IgG 3 は、His-435 シグナルを欠くが、G3m(s, t) を示す Jir 蛋白には、IgG 1 同様 His-435 に相当するシグナルが認められた。
3. IgG の His-435 が、Fc 部と PA との結合に大きく関与しており、また IgG 3 のアロタイプマーカー(s, t) と密接な関連を持つことが示唆された。
4. IgG 1 と IgG 3・Jir に含まれる His-435 は、pFc' フラグメント中では同じ環境にあるが、Fc フラグメントでは異なる挙動を示し、IgG 1 と IgG 3・Jir では、Fc 部を構成する CH2, CH3 ドメインの相互作用に差異のあることが示された。
5. IgG 1 と IgG 3、アロタイプ G3m(s, t) と non(s, t) との区別・同定に、 ^1H -NMR スペク

トルの分析が有効であることがわかった。

論文の審査結果の要旨

本研究は、従来ヒトIgG 3はプロテインA (PA) と結合しないと考えられていたが、IgG 3・Jir 蛋白がPA と結合することを見出し、NMR を用いてIgG とPA との反応機構を解析したものである。その結果、His-435がPA との結合に関与し、かつアロタイプ(s, t) と密接に関連すること、およびIgG 1とIgG 3 (Jir) では CH_2 , CH_3 ドメインの相互作用が異なることを明らかにしたもので、免疫化学の研究の進歩に寄与するところ大きい。