The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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

【34】

氏名・（本籍）	本澤真弓（ほんざわ まゆみ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6119 号
学位授与の日付	昭和58年6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	**^{1}H-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ィン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い出したので，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^{1}H－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，DCl で pH 調整後，30 ℃，360 MHz（100MHz）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，G 3m（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，C_H3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C_H2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，C_H2-C_H3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G 3m（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い出した。
2. ^{1}H−NMRスペクトルを分析すると，アロタイプG 3 m (g)を示すIgG 3は，His−435シグナルを欠くが，G 3m（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C_H2，C_H3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G 3m（s，t）とnon（s，t）との区別・同定に，^{1}H−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，IgG3・Jir蛋白がPAと結合することを見い出し，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C_H2，C_H3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。