

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33640">https://hdl.handle.net/11094/33640</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。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

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 9	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	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 <sup>1</sup>H-NMR による分析

Fc 10 mg (pFc 5 mg) を 0.2 M NaCl 重水溶液 0.3 ml に溶解し、NaOD, DC1 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.  $^1\text{H}$ -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、 $^1\text{H}$ -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、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 $C_H2$ ,  $C_H3$ 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。