



| | |
|--------------|---|
| Title | 補体古典経路のC5転換酵素におけるC4b-C3b二量体の意義 |
| Author(s) | 高田, 裕子 |
| Citation | 大阪大学, 1987, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35281 |
| 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) | 高 | 田 | 裕 | 子 |
| 学位の種類 | 医 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 第 | 7656 | 号 | |
| 学位授与の日付 | 昭和 | 62年 | 3月 | 26日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科病理系専攻 | | | |
| | 学位規則第5条第1項該当 | | | |
| 学位論文題目 | 補体古典経路のC5転換酵素におけるC4b-C3b二量体の意義 | | | |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 井上 公藏 | | | |
| | (副査) 教授 内田 駿 教授 藤尾 啓 | | | |

論文内容の要旨

[目的]

補体第五成分(C5)は、活性化されると、好中球や単核球の走化性因子となるC5a、膜侵襲複合体形成の開始分子となるC5bに限定分解される。そのC5の活性化は、C5転換酵素(C4b2a3b及びC3bBb3b)という複合酵素によっておこる。

古典経路のC5転換酵素(C4b2a3b)に関しては、従来、C3転換酵素(C4b2a)と、それによって活性化され近傍の膜表面に共有結合したC3bとで形成されると考えられてきた。然し、種々の標的表面上で形成されるC5転換酵素が、どのようにして、常に一定の形をとれるのか？また、C5の結合部位がどのような構造をとっているのか？構造と機能の関係では多くの疑問が残されている。

本研究では、C5転換酵素の構成成分間の結合と、C5結合部位に関して検討を加えた。

[方法]

- (1) C5転換酵素(EAC1423)は、感作羊赤血球(EA)に精製補体成分を順次加えて作成した。
- (2) C4b-C3b二量体は、¹²⁵I-標識C4またはC3を用いてEAC1423を作成し、SDS-PAGEとそれに続くAutoradiographyにより解析した。
- (3) 2次元電気泳動は、還元SDS-PAGEをした後、1M hydroxylamineで処理し、再び還元状態でSDS-PAGEを行なった。
- (4) C4b-C3b二量体の分子数は、赤血球に結合した標識蛋白量と、非還元SDS-PAGEのバンドの濃さの比から求めた。
- (5) EAC43またはEAC14へのC5の結合能は、¹²⁵I-標識C5を用いてScatchard-plotから求めた。

[成 績]

(1) E A C1423上のC 4 b - C 3 b二量体の形成

S D S - P A G Eによる解析から、E A C1423形成過程で、C 3 bが赤血球上の低分子物質と結合しているC 4 bに共有結合し、C 4 b - C 3 b二量体が選択的に形成されている事が明らかになった。

(2) C 4 b - C 3 b二量体の性質

2次元電気泳動による解析から、C 4 b - C 3 b二量体は、C 4 bの α' 鎖とC 3 bの α' 鎖がエステル結合してできた物であることが証明された。そのE A C1423上のC 4 b - C 3 b二量体は、pH 7.4, 37°C中で、半減期4.7時間で崩壊した。

(3) C 5 転換酵素内のC 5 結合部位

E A C43へのC 5の結合能を調べると、結合定数 2.1×10^8 L/Mの高親和性結合部位が存在した。C 3 bを変量して異なった数のC 5 結合部位を持つE A C43を作成し、そのC 4 b - C 3 b二量体の分子数を測定すると、分子数はC 5 結合部位数に一致した。即ち、C 4 b - C 3 b二量体が、C 5 結合部位となっていることが示唆された。

(4) E A C14へのC 5 の結合

今まで結合しないと思われていたE A C14へのC 5の結合能を調べると、結合定数 8.1×10^7 L/Mの高親和性結合部位がわずかであるが存在した。その結合は、抗C 3 抗体で阻害されず、抗C 4 抗体で阻害される特異的なものであった。S D S - P A G Eによる解析から、C 4 b - C 4 b二量体の形成を示唆するバンドが見出され、C 4 b - C 4 b二量体にC 5が結合する可能性が考えられた。

[総 括]

- (1) 古典経路のC 5 転換酵素中には、共有結合したC 4 b - C 3 b二量体が存在することがわかった。
- (2) C 4 b - C 3 b二量体は、C 5 結合部位となることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

C 5 転換酵素は、C 3 転換酵素 (C4b2a) とそれによって限定分解を受けたC 3の一断片C 3 bとで構成される複合酵素である。本研究は、標的物質上に共有結合したC 4 bに、C 3 bが、エステル結合し、ヘテロ二量体を作り、その二量体がC 5 結合部位となることを示唆したものである。C 3 とC 4 は分子内チオエステル構造を持ち、標的物質に共有結合することは、従来から知られていたが、複合酵素の四次構造獲得に、エステル結合が、使われていることが、証明されたのは初めてである。補体系の蛋白質に限らず、複合酵素の機能発現に、共有結合が使われている例はほとんどなく、酵素学の領域に新たな概念を加えるものである。よって、この研究は、学位論文に値するものと考えられる。