

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【17】

氏名・(本籍)	たか 高	た 田	ゆう 裕	こ 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 公蔵		
	(副査) 教授	内田 驍	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とから求めた。
- (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) EAC1423上のC4b-C3b二量体の形成

SDS-PAGEによる解析から、EAC1423形成過程で、C3bが赤血球上の低分子物質と結合しているC4bに共有結合し、C4b-C3b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) C4b-C3b二量体の性質

2次元電気泳動による解析から、C4b-C3b二量体は、C4bの α' 鎖とC3b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EAC1423上のC4b-C3b二量体は、pH 7.4, 37°C中で、半減期4.7時間で崩壊した。

(3) C5転換酵素内のC5結合部位

EAC43へのC5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。C3bを変量して異なった数のC5結合部位を持つEAC43を作成し、そのC4b-C3b二量体の分子数を測定すると、分子数はC5結合部位数に一致した。即ち、C4b-C3b二量体が、C5結合部位となっていることが示唆された。

(4) EAC14へのC5の結合

今まで結合しないと思われていたEAC14へのC5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C3抗体で阻害されず、抗C4抗体で阻害される特異的なものであった。SDS-PAGEによる解析から、C4b-C4b二量体の形成を示唆するバンドが見出され、C4b-C4b二量体にC5が結合する可能性が考えられた。

[総 括]

(1) 古典経路のC5転換酵素中には、共有結合したC4b-C3b二量体が存在することがわかった。

(2) C4b-C3b二量体は、C5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

C5転換酵素は、C3転換酵素(C4b2a)とそれによって限定分解を受けたC3の一断片C3b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C4bに、C3bが、エステル結合し、ヘテロ二量体を作り、その二量体がC5結合部位となることを示唆したものである。C3とC4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。