The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	C5転換酵素の構造と機能
Author(s)	小園, 晴生
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35972
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

【9】

氏名・(本籍)	小園晴生（こ その はる お）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 8057 号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**C5転換酵素の構造と機能**
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 池中 徳治　教授 井上 公蔵

論文内容の要旨

C5転換酵素は，補体第5成分を限定分解し，生体防御に重要な役割を果たすC5aとC5bを作る酵素である。この酵素は，血清中の前駆体成分が限定分解を受けた結果，標的上に集合してできるもので，古典経路では，C4b，C2a，C3b，第二経路では，C3b，Bb，C3bという構成をとっている。しかし，その四次構造に関しては，長い間不明であった。我々は最近古典経路のC5転換酵素は，C3bがC4bに共有結合し，そのC4b－C3b二量体が，C5の受容体となることを示唆する結果を得た。本研究は，同様の構造が第二経路のC5転換酵素でも形成されるのかどうか，又，活性化された時に近傍に存在する水酸基やアミノ基ならどこにでも結合すると思われてきたC3bが古典経路C5転換酵素内のC4b上の限定された部位に結合するのかどうか，明らかにする目的で行った。

まず，第二経路のC5転換酵素を血清または精製補体成分（C3，B，D，P）を用いて赤血球上で作成し，1次元及び2次元のSDS－PAGEで解析した。すると古典経路同様，C3b－C3b二量体が形成されていることが確認された。またこのC3b－C3b二量体は，α'鎖間で，エステル結合していることが示された。次に，このC3b－C3b二量体のC5に対する結合定数を測定すると，$2\times10^{8}M^{-1}$という高い値が得られ，この時のC5の結合部位数と，C3b－C3b二量体の分子数を比較すると一致していた。つまり，C3b－C3b二量体が，C5の受容体となっていることが示唆された。

古典経路C5転換酵素は，ヒト血清と感作ヒツジ赤血球を反応させることにより，大量に作成し，精製を行った。C4b－C3b二量体はチオエステルの開裂に伴いC4b及びC3b上に出現する遊離のSH基をIodo〔1－^{14}C〕acetamideで標識することにより，SDS－PAGEとフルオログラフィに

よって検出した。精製したＣ４ｂ－Ｃ３ｂ二量体を，アクロモバクター，プロテアーゼＩで消化すると，放射活性を持つ分子量17000のペプチドが検出された。このペプチドをエステル結合切断の目的で，アルカリ処理後，ＳＤＳ－ＰＡＧＥで解析すると，分子量12000の付近に，２つの放射活性をもつペプチドが生じた。即ち，分子量17000のペプチドは，Ｃ３ｂが，Ｃ４ｂの標識されたＳＨ基の近傍にエステル結合しているものであることを意味している。この分子量17000のペプチドは，ＨＰＬＣ等によって精製することができた。

以上のように，補体第二経路でも，Ｃ３ｂ－Ｃ３ｂ二量体が形成され，それがＣ５の受容体になること，また，古典経路のＣ４ｂ－Ｃ３ｂ二量体では，Ｃ４ｂの非常に限定された部位にＣ３ｂが結合していることが明らかになった。Ｃ５は，一定の構造をしたＣ４ｂ－Ｃ３ｂ二量体のＣ４ｂとＣ３ｂとに二点結合し，Ｃ２ａの活性部位にうまく提示されるものと考えられる。つまり，Ｃ５転換酵素は，３つのサブユニットのうちの２つがエステル結合でむすばれて，基質結合部位を形成するという特異な複合酵素であることが明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

補体系の酵素は，前駆体が加水分解された結果，活性化され，その活性化された断片が集合して次の機能を出していくという特異なものであるが，その基礎となる各補体成分間の四次構造レベルでの議論はなされていないものが多い。Ｃ５転換酵素もその中の１つである。

小園晴生君は，第２経路のＣ５転換酵素Ｃ３ｂ，Bb，Ｃ３ｂを解析した結果，この３つのタンパク質複合体中にＣ３ｂ－Ｃ３ｂ二量体という共有結合した二量体を見出し，それがＣ５に対し，高い親和性をもつこと，つまりＣ５の受容体として働きうることを明らかにした。このことは，前に証明された古典経路でのＣ４ｂ－Ｃ３ｂ二量体の存在と相補って複合酵素の分子集合体としての様式に新たな概念を加えるものである。更に，ランダムに求核基と反応しうると考えられたＣ３ｂが古典経路Ｃ５転換酵素内ではＣ４ｂの限局された場所に結合しうることを明らかにした。これらのことに基づき，Ｃ５転換酵素の新しいモデルを提出している。

以上，本論文は，複合酵素の機能発現様式に構造面での理解を与えたものであり，理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。