IgMはFc部分で尿酸1ナトリウム結晶に吸着する

岩田 英信¹⁾ 山辺 智代²⁾ 金子希代子³⁾

目 的

尿酸1ナトリウム (MSU) 結晶を低密度リポタンパク質 (LDL) を除去した血清とインキュベートするとIgMが選択的に吸着し、血清中濃度がIgMの10倍もあるIgGはほとんど吸着しない。この理由を明らかにするため、IgMのMSU結晶への吸着部位について検討した。

方 法

- 1) LDL除去血清の作製：LDL吸着材 (リボソーバー；カネカ社) を充填したカラムに非痛風男性の血清を通し、素通りした画分をLDL除去血清とした。
- 2) MSU結晶に吸着したIgMの電子顕微鏡による観察：McCarty & Fairsの方法で作製したMSU結晶にLDL除去血清を加えて37℃で30分間インキュベートし、尿酸ナトリウム飽和生理食塩液で洗浄した。無処理のMSU結晶およびLDL除去血清とインキュベートしたMSU結晶に、金粒子でラベルした抗ヒトIgM抗体 (BBInternational社) を加えて37℃で30分間インキュベートし、尿酸ナトリウム飽和生理食塩液で洗浄後、透過型電子顕微鏡で観察した。
- 3) MSU結晶に吸着したタンパク質の限定分解と分析：Denkoの方法で作製したMSU結晶を充填したカラムにLDL除去血清を通し、1M NaClで洗浄後、0.25%トリプシン (Gibuco社) をカラムのベ

ッドボリューム量加えて60℃で10分間インキュベートした。1M NaClで洗浄後、10mMリン酸カリウム緩衝液 (pH7) で溶出し濃縮した。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を行い、クマジブルーで濃染したバンドを切出して液体クロマトグラフ-質量分析装置でペプチド分析し、タンパク質データベースで検索した。

結 果

電子顕微鏡で観察すると、LDL除去血清とインキュベートしたMSU結晶表面には多数の金粒子が認められ、IgMが吸着する結晶面には特異性がなかった。

トリプシンで限定分解しない場合、SDS-PAGEでIgMの μ 鎖 (65kDa) と軽鎖 (25kDa) のバンドだけが濃く染色された。限定分解すると65kDaと25kDaのバンドは染色が薄くなり、新たに38kDaのバンドが出現した。38kDaのバンドからIgM μ 鎖のCH2ドメインよりC末端側のペプチドだけが同定された。

考 察

IgGはFabの可変部位が塩基性アミノ酸に富む一部のクローンだけが、静電的にMSU結晶に吸着すると考えられるが、IgMはFc部分でMSU結晶に吸着し、1M NaClで解離しないことから、より特異性の高い吸着と思われる。

1) 愛媛大学大学院医学系研究科
2) 帝京大学医学部中央機器・RI室
3) 帝京大学薬学部薬品分析学教室

Hidenobu Iwata
Tomoyo Yamanobe
Kiyoko Kaneko