

761

表面プラズモン共鳴 (SPR) を用いたエイズウイルスコアタンパク p24 抗体の測定と血清の影響

(広島県立大・生物資源) ○西村知晃、窪田就彦、一二三恵美、
宇田泰三

【目的】我々はこれまでにアフィニティー差動型センサリやSPR装置を用いて、エイズウイルス外膜糖タンパク gp41 に対する抗体を検出する研究を行ってきた。今回は gp41 と共にエイズ感染の判定に重要なエイズコアタンパク p24 に対する抗体の検出とさらなる感度の向上を目的として実験を行った。

【方法および結果】抗原として用いた p24 は大腸菌で発現させたものを使用し、抗 p24 モノクローナル抗体は、腹水より精製したものを使用した。SPR装置 (日本レーザー電子 (株)) をフロータイプに改良し、抗原である p24 はセンサーチップ金表面上に化学的に固定した。抗 p24 抗体を PBS 緩衝液に溶解した状態では抗体濃度 0 から 40 $\mu\text{g/ml}$ の間できれいな検量線が描けた。しかし血清中の抗体測定においては SPR 信号は大きな影響を受け、感度の大幅な低下と信号の飽和現象が観察された。この影響はブロッキングに血清を用いることにより改善された。また、使用する血清を 56 度、30 分間処理すると感度はさらに改善され、0 から 20 $\mu\text{g/ml}$ できれいな検量線が描けた。ただしこの条件でも SPR 信号の飽和現象は抗体濃度 20 $\mu\text{g/ml}$ 以上で依然として残った。また、抗 p24 モノクローナル抗体に抗マウス IgG 抗体等を積層することで感度の向上を計る事が可能であった。

1) T.Uda, E.Hifumi et al., Biosensors & Bioelectronics, 10, 477-483(1995).
Sensing of the antibody against AIDS virus core protein p24 using SPR.

○Tomoaki Nishimura, Naruhiko Kubota, Emi Hifumi, Taizo Uda
(Department of Bioresources, Hiroshima Prefectural University.)

【Key words】SPR, HIV, sensor, antibody, p24

762

モルヒネに対する抗イディオタイプモノクローナル抗体のFvの立体構造予測と抗原認識部位の解析 (広島県立大・生物資源) ○山本健二・

石丸正則・森原史子・一二三恵美・宇田泰三

【目的】抗イディオタイプ抗体はもとの抗原の分子構造を反映したパラトープを持つとされ、近年、それを医薬品の開発などに利用しようとする流れがある。本研究ではモルヒネに対する抗イディオタイプモノクローナル抗体である iMO-3 (IgG1 (κ)) についてその反応性と共に可変領域の遺伝子解析、コンピュータによる構造解析を行った。

【方法及び結果】抗体産生細胞より mRNA を抽出して、抗体の可変領域遺伝子を可変領域の両端に特異的なプライマーを用いた RT-PCR 法により増幅させた。ついで pGEM-T ベクターに組み込んで、ジデオキシ法により塩基配列を決定し、アミノ酸配列を推定した。抗モルヒネ抗体 (MO-3) に対する免疫化学的反応性はモルヒネと iMO-3 で同様の挙動を示した。AbM (Oxford Molecular 社) を使用してコンピュータで三次元構造を予測した。計算された可変領域の三次元コンフォメーションを見ると、抗原認識に重要であるといわれる超可変領域 (CDR) の一部分に芳香族アミノ酸の集中がみられ、モルヒネ分子がこれら芳香族アミノ酸によって模倣されているのではないかと考えられた。

Analysis of antigen recognition site and molecular modeling for Fv of anti idiotypic monoclonal antibody against morphine.

○Kenji Yamamoto, Masanori Isimaru, Fumiko Morihara, Emi Hifumi, Taizo Uda
(Dept. of Bioresources, Hiroshima Pref. Univ.)

【Key words】idiotypic, monoclonal antibody, morphine, RT-PCR