

563 担子菌 *Irpea lacteus* が生産するセルラーゼ遺伝子のクローニング

(信州大・繊維・応生科、*信州大・工・物質工、**信州大・遺伝子)

濱田奈保子、○布施直樹、小田 信、下坂 誠、神田鷹久*、岡崎光雄**

【目的】これまでに多くの生物種からセルラーゼ遺伝子がクローニングされ、その構造解析が行われているが、担子菌由来のセルラーゼに関する報告は少ない。我々は *I. lacteus* の生産するセルラーゼの誘導及び発現機構等を明らかにする目的で遺伝子のクローニングを試みた。既にエキソ型セルラーゼ遺伝子を1種単離し、その全塩基配列を報告した。¹⁾ 今回は新たに単離された別のセルラーゼ遺伝子 *cel3* について解析を行った。

【方法・結果】*I. lacteus* のゲノムDNAライブラリーに対して *Trichoderma reesei* 由来の Cellobiohydrolase I 遺伝子をプローブに用いてブラークハイブリダイゼーションを行い24個の陽性クローンを取得した。制限酵素分布パターンが異なるクローン3種 (*cel1*, *cel2*, *cel3*) のうち、*cel3* 遺伝子の塩基配列を決定した結果、*cel3* はセルラーゼファミリーCに属することが示唆された。現在、転写物の解析を行っている。

1) 日本農芸化学会1998年度大会講演要旨集p.35

Cloning of Cellulase Gene from the Basidiomycetes *Irpea lacteus*

Naoko Hamada, ○Naoki Fuse, Makoto Oda, Makoto Shimosaka,

Takahisa Kanda* and Mitsuo Okazaki** (Dept. of Applied Biology,

*Dept. of Chemistry & Material Engineering, **Gene Research Center, Shinshu Univ.)

【key word】 *Irpea lacteus*、exo-cellulase、gene cloning

564 肝ガン細胞特異的糖鎖を認識する抗体及び一本鎖抗体の死滅効果

(阪大院・工・応生、*京大院・工・合成・生化)

○中辻美樹、楢尾麻奈絵、高木昌宏、今中忠行*

【目的】我々は、肝ガン細胞HCC-S102に特異的に存在する糖鎖を認識するモノクローナル抗体Hep27の *in vitro* におけるガン細胞の死滅効果、並びにcDNA塩基配列について明らかにしている¹⁾。本研究では、Hep27抗体の *in vivo* におけるガン細胞死滅効果、更に、抗原性の少ない抗体治療薬の開発を目指し一本鎖抗体 (sFv) の作製を行い、ガン細胞の死滅効果について解析した。

【方法と結果】ガン細胞HCC-S102をヌードマウス大腿部皮下に移植し、腫瘍を形成させた後にHep27抗体を1日おきに10 μgずつ5回接種したところ、約40日後にはほぼすべてのガン細胞が消滅した。次に、Hep27抗体のL鎖及びH鎖の可変部領域をコードする塩基配列に基づいたPCR後、両鎖をコードする領域をフレキシブルリンク (Gly, Ser) に対応するオリゴヌクレオチドで連結させたsFv遺伝子を作製し、発現用ベクターpET-8cに挿入した。構築したベクターを用いて大腸菌内でsFvを発現させ、不溶性顆粒として回収し、塩酸グアニジンを用いて可溶化後、透析法によるリフォールディングを行った。作製したsFvを用いて *in vitro* におけるガン細胞死滅効果の検討を試みた結果、5 μg/mlの濃度のsFvで5日間培養後の生細胞数は、sFv無添加の場合に比べて50-60%に低下していることが解った。

1) 高木ら、1996年度日本農芸化学大会（京都）要旨集

The tumoricidal effects of monoclonal antibody Hep27 and its single chain Fv

○Miki Nakatsuji, Manae Tsukio, Masahiro Takagi, Tadayuki Imanaka*

(Dept. Biotechnol., Osaka Univ., *Dept. Biol. Chem., Kyoto Univ.)

【Key words】 hepatocarcinoma cell, single chain Fv, tumoricidal effects