

563 担子菌 *Irpex 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。<sup>1)</sup> 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プライ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 *Irpex lacteus*

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

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

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

【key word】 *Irpex 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、槻尾麻奈絵、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<sup>1)</sup>。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カー (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub> 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