

349 C末端特異的抗体によるシャペロニン $\alpha$ 、 $\beta$ サブユニットの識別  
(阪大院・工・応生、京大院・工・生化\*、CREST・今中プロジェクト)

○泉 美知、藤原伸介、高木昌宏、福井希一、今中忠行\*

【目的】シャペロニンは生物界に広く存在し、生体内での蛋白質フォールディングに参与していると考えられている。これは、細菌の GroEL に代表され、ホモオリゴマーからなるグループ I、ヘテロオリゴマーを形成する真核生物、始原菌のシャペロニンが属するグループ II に分類される。グループ II に属するものは生体内で協同的に機能していると考えられるが、オリゴマー形成の量比、機能発現でそれぞれが担う役割など詳細に関しては未解決のままである。我々は超好熱菌 *Pyrococcus kodakaraensis* KOD1 株のシャペロニンの機能解析及び環境変化に対する発現応答に関する知見を得るために実験を行った。

【方法及び結果】KOD1 株のシャペロニンは $\alpha$ (CpkA)、 $\beta$ (CpkB)の2種類のサブユニットからなる。*In vitro* では、組換え体として発現させた CpkA もしくは CpkB は、グアニジン塩酸塩によって引き起こされるロダネーゼの凝集を防いだ。さらに、グアニジン塩酸塩に対する耐性は大腸菌の GroEL よりも高かった。また、それぞれを大腸菌内で外来タンパク質と共発現させると、不溶性顆粒形成は軽減した。これまでの機能解析の結果では CpkA、CpkB の性質に明確な相違点は示されていない。しかし、CpkA の C 末端側には細菌のシャペロニンに特徴的な G-M モチーフが存在するが、CpkB にはみられなかった。この差が生体内での機能に与える影響を検討するために、それぞれの C 末端側の配列に相当するペプチドを合成し、ウサギを免疫し、抗 CpkA 血清、抗 CpkB 血清を得た。Western blotting の結果、両血清はそれぞれ CpkA、CpkB に特異的であった。現在、KOD1 株でのそれぞれの発現変化を、増殖期及び培養温度の異なる菌体で検討している。

Distinguishment of two homologous chaperonins, CpkA and CpkB by respective C-terminal specific antisera. ○Michi Izumi, Shinsuke Fujiwara, Masahiro Takagi, Kiichi Fukui, Tadayuki Imanaka\* (Dept. of Biotechnol., Osaka Univ., \*Dept. of Synth. Chem., Kyoto Univ., JST-CREST)

【Key Words】chaperonin, antiserum, archaea

350 抗ハプテン抗体軽鎖の抗原特異性に関する物理化学的研究

(広島県立大・生物資源) ○石丸正則・一二三恵美・宇田泰三

【目的】演者らはこれまでにメタンフェタミン(覚醒剤: MA)に対する抗体の抗原認識部位の解析を行って来たが、抗原の親和性に抗体重鎖のCDR-2が深く関与していることを明らかにした<sup>1)</sup>。一方、抗体軽鎖の役割についてはこれまで不明であったので、本研究ではこの点を明らかにするため軽鎖の抗原特異性について検討した。

【方法及び結果】抗体の重鎖と軽鎖の分離はジチオスレイトールによって還元後、ジスルフィド結合の再結合を防ぐためにヨード酢酸でアルキル化した。精製はSephadex G-25およびG-100により行い、SDS-PAGEにより純度を確認した。抗原親和性は通常のELISA及び競合阻害ELISAにより求めた。今回MAを強く認識するMA-15抗体及びメチルエフェドリン(ME)を強く認識するMA-3抗体を用いて実験を行った。これまでの研究からハプテン認識には重鎖、中でもCDR-2が強く深く抗原認識に関与することを報告した。ところが実験結果は予想に反し、MA-15抗体の抗原特異性はMAに対する反応性を1とすると、MEに関して抗体で0.021、重鎖で0.019、軽鎖で0.019となった。一方MA-3抗体の抗原特異性は同様に9.5、7.0、7.8となり、特異性に関し抗体及びそのサブユニット間でほとんど変化がなかった。これは抗MA抗体だけに限られた特殊なケースであるのかどうかについて議論する。

【将来の展開】抗体軽鎖の抗原特異性についての意義を明らかにしたい。

1) Uda, T.; Hifumi, E.; Ishimaru, M., *et al.*, *J. Ferment. Bioeng.*, **83**, 333 (1997).

Aspects of physical chemistry with respect to the specificity to antigens by anti hapten antibodies. ○Masanori Ishimaru, Emi Hifumi, Taizo Uda (School of Biosciences, Hiroshima Pref. Univ.)

【Key words】hapten, antibody, specificity, light chain