

325 ウサギ卵透明帯タンパク (ZPA) の合成ペプチドを用いた、自己抗体産生B細胞エピトープの検索

兵庫医大

長谷川昭子、繁田実、香山 浩二

〔目的〕 卵透明帯は他の組織と交差しない特異的な抗原性を有し、産生された抗体は強い受精阻害作用を示すことから、避妊ワクチンターゲットとして広く研究が行われている。ワクチン開発における最大の問題は、卵巣機能障害を起こすT細胞エピトープを除外し、受精阻害に関与するB細胞エピトープのみを検索することである。演者らは、ウサギ透明帯のZPA (R75K) タンパクの49~66の配列に自己抗体産生B細胞エピトープが存在することを見出した。避妊効果は不十分であったが、このようなエピトープを複数用いることにより効果的なワクチンとなると考え本研究を行った。〔方法〕すでにアミノ酸配列の明らかになっているウサギZPAのFlexibility analysisからエピトープ候補として17種類の20アミノ酸残基からなるペプチドを合成した。まず免疫原性を調べるため、各合成ペプチドをジフテリアトキシノイドに結合し、タンパク量100 μ gをICR系マウスに完全フロインドアジュバントと共に免疫した。産生された抗体活性はドットイムノアッセイ及びウサギ卵巣切片による蛍光抗体法で測定した。〔成績〕17種類のペプチドのうち9種 (No.1、4、5、8、9、10、14、15、17) に免疫原性が認められ、特にNo.5、8、9の反応が強かった。ウサギ卵透明帯との反応では、No.1、5、8が明らかな陽性を示した。〔結論〕Flexibility analysisにより推測された17種のエピトープのうち9種にB細胞エピトープとしての活性が認められ、そのうち3種が天然のウサギ透明帯と反応する抗体を産生した。本研究により、ウサギZPAには天然のウサギ透明帯と反応しうるエピトープが少なくとも3種存在することが判明した。今後これらをウサギに免疫することにより、避妊ワクチン効果を調べる予定である。

326 クローンT細胞を用いたブタ透明帯p-ZP-1のエピトープ分析

兵庫医大

繁田 実 長谷川昭子 香山浩二

〔目的〕 哺乳動物の卵透明帯に対する抗体は、強い受精阻害作用があることから、これを避妊ワクチンに応用する試みがおこなわれている。透明帯そのものを抗原として免疫すると一般に、卵巣炎が誘起される。これは抗原に細胞障害反応を誘起するT細胞のエピトープが含まれているためと考えられている。よって、本研究では我々が樹立したブタのRecombinant ZP-1(r-198mer)抗原に反応するT cell lineより特異的 T cell clone を選別し、そのT細胞エピトープを同定する事を目的とした。〔方法〕1.r-198mer 抗原はrecombinant DNA technology によるin vitro の大量産生系より精製した。2.精製したr-198merをF1雌マウスに免疫し、所属リンパ節より抗原反応性T細胞をIn vitro でcell line化し、これをLimiting Dilution 法にてcloning しT cell clone を得た。3.T細胞エピトープの分析は、同型マウスの脾細胞を抗原提示細胞として種々の抗原またはr-198merの一部を合成したペプチドに対するT細胞増殖反応で測定した。〔成績〕得られた9個のT cell cloneのうち4個はr-198merの中のTLKfragment(No60-79)に反応し、CTY fragment (No50-67)やKRV fragment(No69-100)には反応しなかった。一方、残る5個はTLK、CTY、KRVいずれのfragmentにも反応しなかった。TLKfragment に反応するT細胞クローンの1つであるr-ZPIT-2のエピトープ分析を行ったところ認識に必要な部位はNo65-71の7個のペプチドであった。即ちこのNo65-71にT細胞エピトープが存在し、これはB細胞エピトープの存在する部位(No54-61)の近傍であった。〔結論〕受精阻害作用を示す抗体を誘導するB細胞エピトープ (5H4) を含むブタのr-198mer抗原に反応するT cell clone を樹立した。その認識するT細胞エピトープはB細胞エピトープ (5H4) の近傍に存在することが明らかとなった。