

氏名	辰巳 香澄
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙第326号
学位授与年月日	平成29年7月5日
審査委員	主査 教授 原田 守
	副査 教授 土屋美加子
	副査 教授 鈴宮 淳司

Monoclonal antibody (mAb) は、基礎研究だけでなく臨床においても診断や治療に有用である。また、認識 epitope が判明している mAb は、その epitope を tag として利用でき、タンパク質の解析において特異抗体が入手困難な場合、非常に有用なツールとなる。現在、FLAG-tag/c-Myc-tag/HA-tag などの tag に対する抗体が利用可能であるが、これらの tag は8-10アミノ酸から構成される。解析対象となるタンパク質の構造や機能を阻害しないため、また、翻訳後修飾を避けるためにも、より短いアミノ酸からなる tag が望ましい。今回申請者は、確立した mAb の epitope を詳細に解析することにより、より短い tag を認識する mAb/tag システムの確立を試みた。mAb は、大腸菌発現ベクター pGEX-2T 由来の glutathione S-transferase (GST) タンパク質をマウスに免疫し、hybridoma を確立した。この G196 mAb が認識する最小の epitope を決定するため、GST C末端外部にあるアミノ酸をコードする遺伝子断片の oligonucleotide をアニーリングして準備し、また、ビオチン化した11個のアミノ酸からなる peptide (biotin-SGS GS DLVPRG) 中の各アミノ酸を他のアミノ酸に代替することにより DLVPR が minimal epitope であることを決定した。また、精製 G196 Fab を用いて、peptideとの結合能を isothermal titration calorimetry (ITC) で調べ、親和性が高いことを確認した。G196 Fab の構造をX線で結晶解析し、epitopeとの結合アミノ酸を推定した。さらに、HeLa細胞や酵母菌を用いての実験では、この mAb/tag システムが Western blot/immunoprecipitation/ChIP assay/immunofluorescence assay でも有用であることを確認した。今回確立した short peptide DLVPR を認識する mAb G196/tag システムは、様々なタンパク質研究において有用な解析手法になると考えられる。