

## 26Q-pm002

コンドロイチン硫酸のコアタンパク質への結合領域に対するマウス単クローン抗体のエピトープ解析

○赤津 ちづる<sup>1</sup>, Duriya FONGMOON<sup>1,2</sup>, 水本 秀二<sup>1</sup>, 山田 修平<sup>1</sup>,  
Prachya KONGTAWELERT<sup>2</sup>, 菅原 一幸<sup>1</sup>(<sup>1</sup>北大院生命, <sup>2</sup>Dept. of Biochem., Fac. of Med., Chiang Mai Univ., Thailand)

【目的】コンドロイチン硫酸 (CS) やヘパラン硫酸 (HS) は、細胞表面や細胞外マトリックスに存在し、細胞の増殖、分化などの機能を司っている。CS と HS は、結合領域と呼ばれる共通の四糖構造を介してコアタンパク質に結合している。結合領域四糖はリン酸化や硫酸化を受ける場合があり、この修飾構造が CS と HS の仕分けのシグナルである可能性がある。本研究では、この結合領域を識別する特異抗体を作製し、その反応性を解析した。

【方法】サメ軟骨由来の CS-ペプチドをコンドロイチナーゼ ABC で徹底消化し、結合領域を含む六糖-ペプチドを調製した。さらに、酢酸水銀処理により非還元末端の不飽和ウロン酸を除去した五糖-ペプチドを得た。これを抗原としてマウス単クローン抗体を作製し、高い抗体価のクローンについてそのエピトープ構造を探索した。修飾構造の異なる結合領域オリゴ糖-ペプチドに対する反応性、酵素消化や化学処理による結合領域オリゴ糖-ペプチドの反応性の変化、構造既知のオリゴ糖による阻害効果を、ELISA 法を用いて解析した。

【結果および考察】得られた抗体は、サメ軟骨の CS 由来の結合領域六糖-および五糖-ペプチドと同程度反応し、四糖-ペプチドへの反応性は低下した。クジラ軟骨 CS 由来の結合領域とは反応しなかった。また、スルファターゼ、ホスファターゼ、ペプチダーゼなどの酵素を作用させた結合領域に対する反応性は、消化前後で大きくは変化しなかった。しかし、アルカリで処理した場合には反応性が低下した。今回の実験結果より、本抗体はコアタンパク質のセリン残基とキシロースを含む結合領域の五糖-セリン構造を認識し、しかもサメ軟骨 CS に特徴的な硫酸化修飾構造を識別していると推定された。