

30Y-am05

リウマチ早期診断薬開発のための組換え CD81 タンパク質 (LEL) の大量発現
○中西 徹¹, 藤本 恵利香^{1,2}, 森 宏樹¹, 大橋 俊孝², 二宮 善文² (¹就実大薬,
²岡山大院医歯薬)

[目的] 関節リウマチ(RA)は関節での炎症反応、滑膜細胞の増殖亢進、さらに関節組織の破壊を伴う疾患である。われわれは4回膜貫通分子テトラスパニンの一つである CD81 がこの RA 関節滑膜組織で多く発現しており、RA 原因因子の一つであるシノビオリンの発現を誘導して RA を引き起こす可能性があることを見出した。さらに、この CD81 の発現を CIA モデルラットの関節において siRNA により抑制すると症状の進行が遅延することがわかった。そこで、この RA 誘導因子と考えられる CD81 の関節液中あるいは血中の濃度を測定することで RA の早期診断が可能ではないかと考え、その診断システム構築のために必要な抗体を調製すべく、抗原となる CD81 分子の細胞外領域の大量発現を試みた。

[方法] GST 融合型ベクター-pGEX-2T に CD81 細胞外領域のうち、LEL (large extracellular loop) 領域を PCR で増幅してクローニングした。塩基配列を確認した後それを大腸菌に形質転換して培養し IPTG 誘導を行った。発現タンパク質を GSTrapFF カラムで精製後、さらに HisTrap カラムで精製した。GSTrapFF カラムで精製したタンパク質についてはトロンピン消化条件の検討も行った。

[結果および考察] 精製タンパク質を電気泳動後、37kDa の GST-LEL 融合タンパク質の他に 30kDa 付近に 2 本の分解物と思われるバンドを認めた。最終的に 250ml の培養から 0.44mg/ml (0.8ml) の GST-LEL を得た。これらが目的のタンパク質であることは Western blot で確認した。現在、このタンパク質を抗原として MAbs を作製中であり、これらの抗体を用いて RA 早期診断薬の開発を試みる予定である。