

29E10-am03

組換え抗フォルスコリン Fab の構築とその機能評価

○田中 宏幸¹, 坂元 政一², 首藤 美奈¹, 榎山 えみ香¹, 森元 聡¹, 正山 征洋²
(¹九大院薬, ²長崎国際大薬)

【目的】 *Coleus forskohlii* に含まれるフォルスコリン(For)は、adenylate cyclase を活性化することで知られ、心不全や喘息を対象とした治療薬の原料として利用されている。我々は、免疫化学的手法を活用した品質評価や資源探索など広範な応用研究を展開することを目的として、組換え anti-For Fab を作製し、その有用性を精査した。

【方法】既に樹立している anti-For MAb 産生ハイブリドーマから mRNA を抽出し、さらに逆転写反応により cDNA を合成した。作製した cDNA を鋳型として、軽鎖、VH-C_H1 部をコードする遺伝子を増幅することで Fab 遺伝子を構築した。続いて、各遺伝子を発現用ベクター-pET28a(+)に組み込み、大腸菌 BL21 (DE3) を形質転換した後、常法による発現を行った。発現した Fab は競合的 ELISA の一次抗体として用い、その機能を評価した。

【結果・考察】 Fab 遺伝子を増幅し各配列を確認したところ、CDR 部分を含んでおり、Fab 定常領域については配列に間違いがないことを確認した。大腸菌を宿主として Fab を発現したところ、不溶性画分に発現しており、本画分に発現した Fab の各断片を精製した後、透析法による再生を行った。得られた再生体を用いて、For-HSA を固相化抗原とする競合的 ELISA を構築したところ、30-0.5 ng/mL の濃度領域で For を検出可能なことが明らかとなった。

本研究では、医薬資源として重要な For に対する組換え Fab を作製し、その機能を明らかにした。安価に大量調製可能な本抗体は、For の分析や分離など様々な応用研究に利用できる有用なツールといえる。