

27PA-am008

アミロイド β を加水分解する抗体酵素のスクリーニング法の開発

○田口 博明¹, 新城 芳佳¹, 石原 康弘¹, 藤田 快男¹, 一二三 恵美², 宇田 泰三^{3,4} (¹ 鈴鹿医療大薬, ² 大分大 全学研推機, ³ 大分大工, ⁴ 九州先端科技研)

【目的】アミロイド β ペプチド(A β)はアミノ酸 39-42 個よりなるペプチドで、アルツハイマー病の原因分子の一つであると考えられている。それゆえ、A β の脳内濃度を低下させることにより、アルツハイマー病の予防や治療の可能性が示唆されている。現在我々は、A β を加水分解する抗体酵素を用いたアルツハイマー病の予防・治療薬の開発を目指している。そこで、A β 加水分解活性を有する抗体酵素の迅速なスクリーニング方法の確立を目的とし、消光性蛍光基質を用いた抗体酵素のスクリーニング系の開発を行った。

【方法】消光性蛍光基質のアミノ酸配列は、切断することでA β の凝集性及び神経毒性を消失させることが知られている結合 (Lys²⁸-Gly²⁹) を含む A β 26-33 とした。蛍光共鳴エネルギー移動のドナー分子として蛍光物質 (MCA)、アクセプター分子として消光性物質 (DNP) を用いた。基質の合成は Fmoc 固相合成法により行い、樹脂からの脱離は Reagent K を用いた。得られた粗生成物は HPLC にて精製し、蛍光測定により蛍光物質の蛍光が消光していることを確認した。抗体酵素のスクリーニングは、消光性蛍光基質と精製したヒト型軽鎖抗体を 96 穴マイクロプレート上で反応することにより行った。加水分解反応の進行はマイクロプレートリーダーで検出し、反応により生じたペプチド断片の構造決定は質量分析にて行った。

【結果および考察】61 種類のヒト型軽鎖抗体中 3 種類が消光性蛍光基質を加水分解した。さらにそれら抗体は A β 1-40 を加水分解した。これらの結果から、A β 部分ペプチドを含む消光性蛍光基質を用いたスクリーニング方法は、A β 加水分解活性を有する抗体酵素の同定に有用であることが示された。本発表では、さらに詳細な解析結果について報告する。