

# 単クローン抗体を分子鋳型にした新規機能性ペプチド設計における基盤研究

## Molecular Design of Functional Small Peptide Using Monoclonal Antibody

田中 孝一

Koichi TANAKA

### 1. はじめに

本論文は単クローン抗体を分子鋳型に用いた機能性ペプチドの設計法と、それにより作製されたペプチドの機能解析を行ったものである。本研究では、特にアルツハイマー病の原因分子である、アミロイドベータタンパク (A $\beta$ ) を分子標的とし、近年の抗体工学技術により確立された線維状 A $\beta$  特異的抗体のエピトープ解析とエピトープペプチドによる A $\beta$  線維化に及ぼす影響について解析を行った。

### 2. 実験方法及び結果

線維状 A $\beta$  特異的抗体 (B6, B7, D1, F10) を分子鋳型とし、各抗体のエピトープ解析をランダムペプチドファージライブラリを用いて決定した。その結果、各抗体に共通したエピトープ (B6-C15) が存在することが明らかとなった。次に、B6-C15 の A $\beta$  との相同性解析を行った結果、A $\beta$  の C-末端側に非常に弱い相同性をもつことが明らかとなった。

エピトープペプチドの合成にあたり、親水性を付与する為に、膜透過性ペプチドである TAT ペプチ

ドを付加した TAT-B6-C15 を合成した。次に、TAT-B6-C15 の A $\beta$ 42 の線維化に及ぼす影響についてチオフラビン T により解析を行った。線維化実験 0 時間目に TAT-B6-C15 を加え経時的にチオフラビン T アッセイを行った結果、7 日目においても線維化を阻害することが明らかとなった。この線維形成阻害の機序を明らかにする為に、線維化過程に形成される A $\beta$  分子種との結合活性を解析した。線維化実験の 0 時間目から経時的にサンプリングを行い、それぞれのタイムコースサンプルに対する TAT-B6-C15 の結合活性を dot blot 及び、SPR 解析にて検討した。その結果、線維形成前オリゴマーと結合活性を示し、モノマーや線維状 A $\beta$  には結合しないことが明らかとなった。

### 3. まとめ

本研究で、線維状 A $\beta$  特異的抗体を分子鋳型として設計したペプチドが、モノマー A $\beta$  や線維状 A $\beta$  とは結合せず、線維形成前オリゴマーに結合し線維化を阻害することが明らかとなった。この線維形成阻害機序から、A $\beta$  の線維化が単純なモノマーの重合反応ではなく、オリゴマー同士の重合反応により伸長されることが示唆された。

これらの結果から、抗体を鋳型にした分子鋳型設計により、機能性ペプチドの設計が可能となることが示された。