

2種類の抗原 (Tau & A β) を同時分解する 2機能型抗体酵素の作製と性質 (II)

(九州先端研¹・鈴鹿医療大²・大分大³) ○宇田泰三¹・田口博明²・野中玲実³・
一二三恵美³

Production and properties of a bi-functional catalytic antibody that simultaneously degrades two types of antigens (Tau & A β) (II) (¹Nanotechnology Laboratory, ISIT, ²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Suzuka University of Medical Science, ³Research Promotion Institute, Oita University) ○Taizo Uda,¹ Hiroaki Taguchi,² Tamami Nonaka,³ Emi Hifumi³

Alzheimer's disease (AD) is a major cause of dementia, and the latest research attributed it to the formation of extracellular Amyloid-beta (A β) aggregates and intracellular neurofibrillary tangles caused by Tau protein. Therefore, we attempted to produce a bi-functional catalytic antibody capable of simultaneously degrading both of these antigenic molecules by genetically combining two kinds of catalytic antibodies. The bi-functional catalytic antibody could decompose two antigenic molecules. In addition, an amino acid mutation that can increase the activity of catalytic antibody was performed. As some interesting results were obtained, we will report them in detail.

Keywords : Catalytic antibody; Tau protein; Beta-amyloid; Bi-functional

【目的】アルツハイマー病 (AD) は認知症の主な原因であり、最新の研究では細胞外 Amyloid-beta(A β)凝集体の生成と Tau 蛋白質による細胞内過リン酸化神経原線維変化がその要因とされている。そこで、これらの両分子を同時に分解できる 2機能型抗体酵素の作製を試みると同時に、これら2種類の酵素活性がより向上するアミノ酸変異を加えたところ、興味あるいくつかの結果を得たので詳しく報告する。

【実験手法】A β ペプチドおよび Tau 蛋白質をそれぞれ分解可能なヒト型抗体酵素遺伝子をリンカーで繋ぎ、pET20b (+)に組み込んだ。次いで大腸菌 BL21(DE3)pLysS に形質転換し IPTG で発現誘導し、培養上清の可溶性画分を回収後、Ni-NTA (QIAGEN) カラムクロマトにより精製した。酵素活性は、FRET-A β および FRET-Tau を化学合成し、これらが抗体酵素により分解されるときに蛍光強度を測定する事により評価した。

【結果と考察】#7TR クローンは A β の Gly20-Ala21 間を¹⁾、また、S5 クローンは Tau の Gly21-Asp22 間等のペプチド結合を切断する抗体酵素である。本研究では両クローンの可変領域部分を Linker ((Gly₄Ser)₃)で繋ぎ scFv 型分子とした。次いで、この scFv 型分子を発現・精製後、FRET-A β および FRET-Tau と反応させたところ、同 scFv 型分子は A β および Tau ペプチドをそれぞれ分解した。さらに申請者らが最近見出した抗体の酵素活性向上法²⁾を用いて上記 scFv 型のそれぞれの軽鎖可変領域の Pro95 を欠失させたところ、より高い FRET-A β および FRET-Tau 分解活性を示した。本手法で2つの抗原を同時に分解する高活性な 2機能型抗体酵素の作製が可能となった。

1) E. Hifumi, et al., *FASEB Bioadvances*, **1**(2), 93-104(2018). 2) E. Hifumi et al., *Science Advances*, **6**(13), eaay6441(2020).