

多量化する抗体酵素軽鎖の会合挙動

(奈良先端大物質¹・大分大全学研究推進機構²・九州先端研ナノテク³) ○酒井 隆裕¹・Wahyu Firtiana¹・山中 優¹・一二三 恵美²・宇田 泰三³・廣田 俊¹

Studies on association of an antibody enzyme light chain that oligomerizes (*Graduate School of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology*¹, *Research Promotion Institute Oita University*², *Nano-tech Lab, ISIT*³) ○Takahiro Sakai,¹ Wahyu Firtiana,¹ Masaru Yamanaka,¹ Emi Hifumi,² Taizo Uda,³ Shun Hirota¹

Some antibodies exhibit enzymatic activity. An antibody enzyme that increases its activity by oligomerization has been reported. In this research, we investigated an antibody enzyme light chain A that oligomerizes and its mutant A_{C220A} in which the Cys residue—forming a disulfide bond with the Cys of the heavy chain—is replaced with Ala. Size exclusion chromatography analysis showed that when the concentration of antibody light chain A is 290 μM, the ratio of monomer to tetramer is 8:92, whereas the ratio changes to 28:72 when the antibody light chain A concentration is reduced to 5.8 μM. These results reveal that an equilibrium is established between the monomer and tetramer for antibody light chain A. Similarly, antibody light chain A_{C220A} exhibited an equilibrium between the monomer and tetramer, and the binding equilibrium constant was determined to be $2.9 \times 10^{-16} \mu\text{M}^{-3}$ at 4°C. According to the changes in the binding constants of antibody light chain A_{C220A} at 4–45°C, the standard enthalpy change from monomer to tetramer decreased with increasing the temperature, suggesting that antibody light chain B forms a tetramer by hydrophobic interactions.

Keywords : Antibody Enzyme; Antibody Light Chain; Oligomerization; Thermodynamic Parameters

抗体には抗原を分解する酵素作用を持つ抗体酵素が存在し、抗体酵素には多量化により酵素活性が向上するものがある。本研究では、酵素活性を有し多量化する抗体軽鎖 A、抗体軽鎖 A において重鎖の Cys 残基とジスルフィド結合を形成する Cys 残基を Ala に置換させた抗体軽鎖 A_{C220A} のそれぞれの多量体会合挙動を調べた。サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) による分析より、抗体軽鎖 A の濃度が 290 μM のとき単量体と 4 量体間の比率が 8:92 で、溶液を希釈して抗体軽鎖 A の濃度を 5.8 μM にすると単量体と 4 量体の比率が 28:72 となったことより、単量体と 4 量体間で平衡が成り立つことが明らかとなった (図 1)。同様に、抗体軽鎖 A_{C220A} も単量体と 4 量体間で平衡が成り立ち、単量体から 4 量体への結合平衡定数は 4°C で $2.9 \times 10^{-16} \mu\text{M}^{-3}$ と求まった。抗体軽鎖 A_{C220A} の 4~45°C の結合定数の変化より、温度を上げると単量体から 4 量体への標準エンタルピー変化が減少することが分かった。以上より、抗体軽鎖 A_{C220A} は疎水的相互作用により 4 量体を形成することが示唆された。

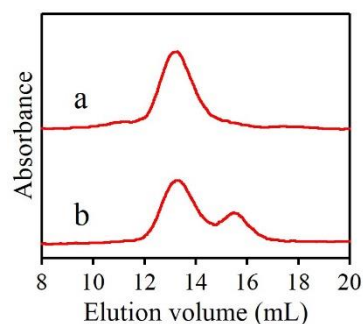


図 1. 抗体軽鎖 A の SEC 溶出曲線。抗体軽鎖濃度：a) 290 μM, b) 5.8 μM。