

## 液中動作 FM-AFM による IgG 抗体分子 6 量体形成の抗体種依存性 Self-assembled hexamers of IgG antibodies investigated by FM-AFM in liquids

京大院工<sup>1</sup>, 京大白眉セ<sup>2</sup>

°木南 裕陽<sup>1</sup>, 井戸 慎一郎<sup>1</sup>, 小林 圭<sup>1,2</sup>, 山田 啓文<sup>1</sup>

Dept. of Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.<sup>1</sup>, The Hakubi Center, Kyoto Univ.<sup>2</sup>

°H.Kominami<sup>1</sup>, S. Ido<sup>1</sup>, K. Kobayashi<sup>1,2</sup>, H. Yamada<sup>1</sup>

E-mail: h.kominami@piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp

【はじめに】近年、動作環境を問わないナノスケール分解能の観察手法として原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy: AFM) が幅広く用いられている。液中環境において動作が可能なことから、生体分子の観察手法として注目されており、われわれの研究室では DNA の 2 重らせん構造の観察[1]や自己組織的に形成されたマウス由来のモノクローナル抗体 (図 1, Immunoglobulin G: IgG) の 6 量体およびその 2 次元結晶の高分解能観察[2]および抗原認識能評価[3]に成功している。しかし、IgG 抗体分子の自己組織化と抗体分子の生体機能における意味は未だ明らかにされていない。今回は、IgG 抗体分子の自己組織化が一般的な現象であるのかを調べるため、従来用いてきた IgG 抗体分子とは宿主やサブクラスが異なるモノクローナル IgG 抗体分子を用いて、6 量体や 2 次元結晶の形成の有無を FM-AFM を用いて評価した。

【実験方法と結果】試料としてアクチン C 末端の合成ペプチドを抗原とするマウス由来のモノクローナル IgG2a 抗体 (約 0.1  $\mu$ M) を用い、観察溶液は 50 mM MgCl<sub>2</sub> を含む 10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) とした。へき開したマイカ基板上に抗体分子を滴下し、観察溶液を用いてリンスを 5 回行うことで基板に十分に吸着していない抗体分子を取り除き、液中 FM-AFM 観察を行った。図 2 にマイカ基板上に吸着した IgG2a 抗体分子の液中 FM-AFM 像を示す。IgG 抗体分子 6 量体の特徴である 6 個の Fc 領域が自己組織化したドーナツ状の構造が観察された。Fab 領域に関しては抗体分子が密集しているため明瞭に観察されなかったと考えられる。この結果により、マウス由来のモノクローナル IgG2a 抗体分子においても 6 量体化が生じることが明らかとなった。また、マウスの腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ : TNF- $\alpha$ ) を抗原とするラット由来のモノクローナル IgG1 抗体分子を用い、同様の実験条件で液中 FM-AFM 観察を行った結果を図 3 に示す。図中の実線で囲った領域に示すように、やや鮮明ではないものの 6 量体の特徴的な構造が観察されており、ラット由来のモノクローナル IgG1 抗体分子も特定の電解質中において自己組織化することが明らかとなった。発表当日は別の動物を宿主とする IgG 抗体分子に対して自己組織化の有無を調査した結果についても報告する。

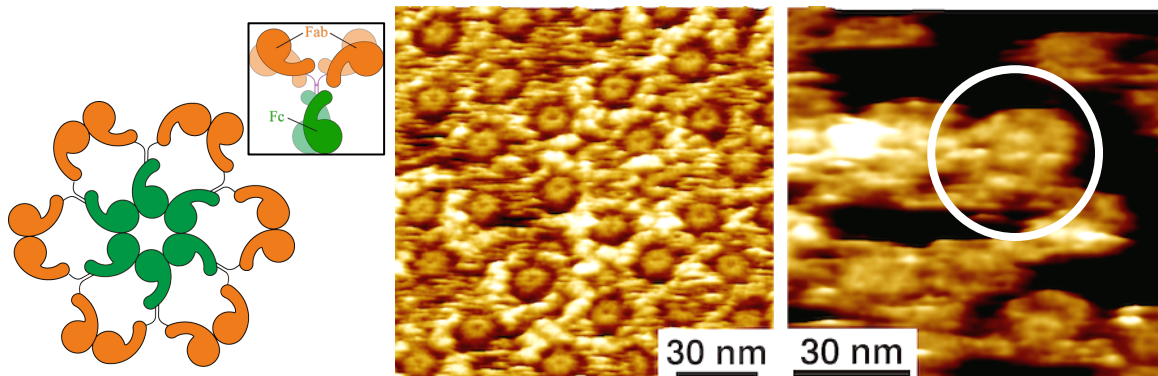


図 1: IgG 抗体分子 6 量体のモデル図。インセット: IgG 抗体分子単量体のモデル図 (Fab: Fragment antigen-binding, Fc: Fragment crystallizable).

図 2: 6 量体化したマウス由来の IgG2a 抗体分子の液中 FM-AFM 像 (50 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM リン酸緩衝液中観察)。

図 3: 6 量体化したラット由来の IgG1 抗体分子の液中 FM-AFM 像 (50 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM リン酸緩衝液中観察)。

[1] S. Ido et al. *ACS Nano* **7**, 1817 (2013). [2] S. Ido et al. *Nature Mater.* **13**, 264 (2014).

[3] 木南他, 2013年第74回応用物理学会秋季学術講演会, 17a-C6-7.