

4 量化する抗体酵素軽鎖の会合挙動

(奈良先端大¹・大分大研究マネジメント機構²・九州先端研ナノテク³) ○酒井 隆裕¹・Wahyu Fitriana¹・真島 剛史¹・小林 直也¹・一二三 恵美²・宇田 泰三³・廣田 俊¹

Studies on the association of a tetrameric catalytic antibody light chain (¹NAIST, ²Inst. Res. Mgmt., Oita University, ³Nano-tech Lab, ISIT) ○Takahiro Sakai,¹ Wahyu Fitriana,¹ Tsuyoshi Mashima,¹ Naoya Kobayashi,¹ Emi Hifumi,² Taizo Uda,³ Shun Hirota¹

Catalytic antibody is an antibody with catalytic activity. Its activity may increase by oligomerization.^[1]

In this research, we investigated an oligomeric catalytic antibody light chain #4

mutant, #4C220A, in which the Cys residue that forms a disulfide bond with the Cys of the heavy chain is replaced with Ala (Fig. 1). Size exclusion chromatography analysis revealed that #4C220A exists in equilibrium between tetrameric and monomeric forms. The dissociation equilibrium constant was determined to be $2.8 \times 10^{-16} \text{ M}^3$ at 25°C. By analyzing the dissociation constants at 4–45°C, we found that the standard enthalpy change by the dissociation of the tetramer to monomers decreases by increasing the temperature, indicating that #4C220A forms a tetramer through hydrophobic interactions. Additionally, the dissociation rate of #4C220A tetramer was much slower than those of typical protein complexes, suggesting that structural changes may occur during the dissociation of #4C220A tetramer.

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

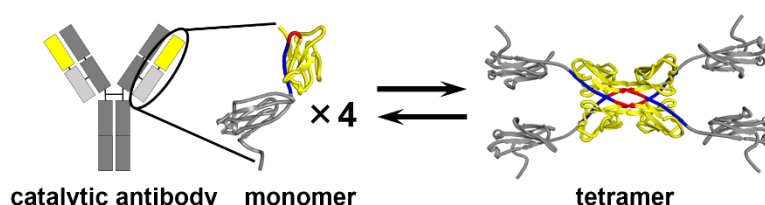


Fig 1. Schematic representation of equilibrium between monomeric and tetrameric forms of catalytic antibody light chain.

抗体の中には標的分子を分解する酵素活性を有する抗体酵素が存在し、抗体酵素には多量化により活性が向上するものがある^[1]。本研究では、酵素活性を有し多量化する抗体軽鎖#4に着目し、重鎖とジスルフィド結合を形成するCys残基をAlaに置換した抗体軽鎖#4C220Aの多量化会合挙動を調べた (Fig. 1)。サイズ排除クロマトグラフィーによる分析により、抗体軽鎖#4C220Aは溶液中において4量体と単量体間で平衡状態にあることが明らかになった。25 °Cで4量体から単量体への解離平衡定数を求めると、 $2.8 \times 10^{-16} (\text{M}^3)$ と算出された。次に、4–45 °Cでの抗体軽鎖の解離平衡定数の変化より、熱力学的パラメーターを算出した。温度上昇に伴い、4量体から単量体へ解離する際の標準エンタルピー変化量が増大し、抗体軽鎖#4C220A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。また、いずれの温度においても4量体から単量体への解離速度は、通常のタンパク質複合体と比較して非常に遅かったことから、4量体の解離は大きな構造変化を伴って起こることが示唆された。

1) V. Sharma, W. Heriot, K. Trisler, *et al.*, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 33079–33087.