

「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」  
平成 13 年度採択研究代表者

宇田 泰三

(広島県立大学 教授)

「健康・福祉のためのナノバイオ材料およびバイオ素子としての「スーパー抗体酵素」の創製」

#### 1. 研究実施の概要：

「スーパー抗体酵素」は抗体でありながら標的とするタンパク質抗原を酵素的に分解（破壊）することのできるユニークな性質を有している。本研究では悪性細菌や悪性ウイルスに対する「スーパー抗体酵素」を意図的に作製できるのか、また、作製できた「スーパー抗体酵素」はどの程度の酵素活性や抗原認識能をもつのか、さらには悪性細菌や悪性ウイルスに対してどの程度の有用性を示すのかを解明することにある。今年度はHIVの感染に深く関与するchemokine receptor CCR5の第2細胞外領域や*Helicobacter pylori*菌のureaseを標的にした「スーパー抗体酵素」の作製をおこない、これら 抗原ペプチドを分解する抗体酵素の作製に成功した。また、なぜ「スーパー抗体酵素」が自然に生成してくるのかの基礎的な研究を通して、ある特定なgermlineに属する抗体だけが、生まれながらにして酵素活性を有する一次配列を持っているとの結論に至った。従って、こうした酵素活性をもつ抗体（「スーパー抗体酵素」）をAntigenaseと呼ぶことにした。

#### 2. 研究実施内容

平成 14 年度は研究環境もほぼ整備でき本格的に動き始めた。

##### 研究目的：

悪性細菌、ウイルス、ガン細胞などをターゲットとし、これらを攻撃・破壊する「スーパー抗体酵素」(Antigenase)を開発する。具体的には、エイズウイルスやインフルエンザウイルス、さらには胃潰瘍 (or 胃ガン) の原因菌とされるピロリ菌などの感染に関与する標的分子に対する抗体を作製し、その中から抗原である標的分子を破壊するAntigenaseを取得し、医薬品開発の道を切り拓く。また、意図的に複数の標的分子（あるいは標的部位）に対して攻撃可能な複数のAntigenaseを取得も目指す。また、学問的にはAntigenaseの本質を明らかにする。Antigenaseの酵素活性向上方法の検討も本研究目的のひとつである。

##### 方法：

エイズウイルスでは感染に重要な役割を果たすchemokine receptor CCR5の第2細胞外

領域に対する peptideを2種類設計・合成し、これらを抗原としてマウスに免疫してモノクローナル抗体をいくつか作製し、それらの抗体遺伝子の解析を行った。つぎに、これらのアミノ酸配列を基に触媒三つ組み残基の存在を分子モデリングから推定した。触媒三つ組み残基の存在が予測された抗体を重鎖、軽鎖に分離後、抗原ペプチドの分解試験を行った。同様な方法で*Helicobacter pylori* ureaseに対するAntigenaseの取得を試みた。

Antigenaseの酵素活性向上方法としてはエンドペプチダーゼを用いたBence Jones Protein (BJP)の断片化を行い、合成基質の分解活性を検討した。

結論：

抗原ペプチドを分解する抗体酵素としてchemokine receptor CCR5に対して数種類、*Helicobacter pylori* ureaseに対しても数種類を得ることが出来た。そして、抗原分解活性を示したものはほとんど分子モデリングから抗体の3次元構造に触媒三つ組み残基の存在すると推測されたものが大半であった。また、Antigenaseが自然に生成してくるのかの実験的及び統計学的な研究から、ある特定のgermlineに属する抗体だけが、生まれながらにして酵素活性を有しているとの結論に至った。

酵素活性向上に関する実験から、リシルエンドペプチダーゼによる切断でBJPのみならずIgG自体も酵素活性が上昇するものが認められた。従って、リシルエンドペプチダーゼ処理による抗体酵素活性の効率化は有効である。BJP活性断片発現大腸菌の樹立により、その活性断片を恒常的に入手してその性質（酵素活性、結合、細胞への影響など）を調べることができるようになった。

潰瘍性大腸炎が活動期では抗体酵素活性が高く、非活動期には抗体酵素活性がないことから病態の活動性を示す指標として抗体酵素活性を用いることができる可能性がある。

### 3. 研究実施体制

宇田グループ

- ① 研究分担グループ長 : 宇田 泰三 (広島県立大学大学院 生物生産 システム科 教授)
- ② 研究項目 : 新たな「スーパー固体酵素」の取得および効率的作成方法の開発

松浦グループ

- ① 研究担当グループ長 : 松浦 欽司 (花田医院院長・近畿大学非常勤研究員)
- ② 研究項目 : ヒト型抗体酵素BJP(Bence Jones Protein)の活性向上および肝細胞への影響

### 4. 主な研究成果の発表 (論文発表および特許出願)

(1) 論文発表

- E. Hifumi, N. Kubota, Y. Niimi, K. Shmizu, N. Egashira, T. UDA,

“Elimination of ingredients effect to improve the detection of anti HIV-1 p24 antibody in human serum using SPR apparatus” *Anal. Sci.*, **18**, 863-867 (2002).

- T. Uda, E. Hifumi, “New functional nano-biomaterial ~From super catalytic antibody to “Antigenase” ~” Proceedings of International Symposium on Nano-Intelligent Materials/System. pp47-52 (2002, Tokyo)

(2) 特許出願

H14年度特許出願件数：7件（研究期間累積件数：7件）