

岸本 潤論文内容の要旨

主 論 文

Identification of the pentapeptide constituting a dominant epitope common to all eukaryotic heat shock protein 90 molecular chaperones

全ての真核生物のH S P 90 分子シャペロンに共通の高抗原性エピトープを形成する5つのアミノ酸残基の同定

岸本 潤 福間 裕 水野明夫 根本孝幸
(Cell Stress & Chaperons • 10 巻 4 号 296-311 2005 年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：水野明夫教授)

緒 言

HSP90 は生物の進化や細胞のアポトーシスなどに関わる重要なたんぱく質で、抗がん剤の標的となるなど臨床とも密接に関連しているといえる。以前口腔分子生化学教室で作成した33種類の抗ヒト HSP90 モノクロナル抗体の解析からヒト HSP90 に1A、1B、1C、2という4ヶ所の高抗原部位を同定行なった。今回は HSP90 の種間での相同性の高さに着目し、作成したモノクロナル抗体を用いて、全生物に共通のエピトープが存在しそれを認識する抗体があるのではないかと考え検索を進めた。

対象と方法

7種類の HSP90 ファミリー蛋白を発現し、イムノブロットと ELISA で上記の33のモノクロナル抗体が認識できるかを調べ、認識できる抗体をパンニング法とペプチドライブラリーシステムを用いて抗体の認識配列を同定し検討を行なった。

結 果

イムノブロットの結果、Site I C の K41110 と K41116C の2つの抗体が酵母 HSP90 (yHSC82) と反応した。そこで Site I C を認識する抗体それぞれが認識する配列を同定し、yHSC82 を認識する抗体と認識しない抗体が認識する配列を比較し、295Pro-Ile-Trp-Thr-299Arg までの5つアミノ酸に依存しているのではないかと注目した。そこで 297Trp 変異、298Thr 変異、296Ile と 298Thr 変異、299Arg 変異という4つの変異ヒト HSP90 を作成し K41110 と K41116C との親和性を調べたところ、296Ile と 298Thr、299Arg が抗体の認識には必須ではなく、このことが2つの抗体が yHSC82 の認識に重要であることが判明した。次にこの抗体がどの程度の種を認識できるかを検討した。ほとんどの真核生物では 295 から 299 までの5つのアミノ酸は保存されており、この領域の配列が違う生物をこの2つの抗体でイムノブロットした結果、認識できることが確認された。したがって、この2つの抗体は全ての真核生物 HSP90 を認識できるという結果を得た。

考 察

今回の研究で、295Pro から 299Arg までを真核生物 HSP90 共通の抗原部位を同定した。このうち、295Pro と 297Trp は抗体の認識に必須であること、296Ile と 298Thr、299Arg は抗原認識に依存性が高い抗体と低い抗体があり、依存性が低い抗体は全ての真核生物 H S P 9 0 を認識できるという結果を得た。