

## 高活性を有する単鎖抗体の無細胞合成 —無細胞免疫学の開拓に向けて—

愛媛大学 VBL

川崎 平康

コムギ胚芽無細胞タンパク質合成システムは、ハイスループット性を有する効率的なタンパク質合成法である。しかし、合成溶液中に還元剤を含むため、分子内に S-S 結合を有するタンパク質を、正しく折り畳んだ状態で合成することは困難であった。私は、モデルとして抗サルモネラ単鎖抗体を用い、この点に関して本システムの能力を検討した。まず、抗体をコードする DNA を無細胞発現ベクターに組み込み、*in vitro* 転写した。次に、得られた mRNA を様々な還元条件下で翻訳した後、合成タンパク質の可溶性画分を、アフィニティークロマトグラフィーに付すことにより活性の割合を調べた。その結果、弱還元条件下、S-S 結合交換反応を触媒する酵素を合成初期に翻訳溶液に添加することにより、合成された抗体の大半が可溶化し、抗原に特異的に結合することが判明した。IAsys により測定したアフィニティ一定数  $K_D$  は  $10^8$  M であり、大腸菌の *in vivo* 発現系で合成されたものよりも 100 倍強い活性を保持していた。さらに、S-S 結合が正しい位置に形成されていることも、MALDI-TOFMS により確認した。以上の結果から、コムギ胚芽由来のタンパク質合成装置は、本来、正常に折り畳まれたタンパク質を合成する能力を有することが明らかとなった。今後、プロテオミクス研究に向けて、単鎖抗体のみならず他の S-S 結合を有するタンパク質の合成にも本システムが利用されることが期待できる。