

## ヒト抗体ライブラリーより単離された抗ジフテリア毒素中和抗体の中和活性の比較検討

○高橋 剛<sup>1</sup>、柿田麻衣<sup>2,3</sup>、鈴木和宏<sup>2,3</sup>、森野和彦<sup>2,3</sup>、辻 孝雄<sup>1</sup>、黒澤良和<sup>2</sup>、小宮貴子<sup>4</sup>、高橋元秀<sup>4</sup>

<sup>1</sup>藤田保健衛生大・医・微生物、<sup>2</sup>藤田保健衛生大・総医研・免疫、<sup>3</sup>抗体研、<sup>4</sup>国立感染研・細菌

黒澤らにより開発されたファージディスプレイ法を用いたヒト抗体ライブラリー(AIMSライブラリー)は正常人抹消血などより得られたmRNAをもとに作製されている。本ライブラリーには三種混合予防接種を受けている個体由来のものが含まれていることが予想されることから、ジフテリア毒素、破傷風毒素、百日咳毒素に対する中和抗体の単離は容易にできると考えられた。今回はそのうちジフテリア毒素を認識する抗体遺伝子を単離した。その中から細胞毒性を阻害する抗体を、Vero細胞を用いたジフテリア抗毒素価測定法により検索した。その結果、細胞毒性を阻害する可能性のある抗体を4クローン得た(柿田ら、第25回日本分子生物学会発表)。本研究ではそれらについて、ジフテリア毒素の毒性発現機構の各ステップ、1)受容体への結合、2)細胞内への取り込み、3)活性部位の細胞質ゾルへの移行、4)伸長因子2の不活化のどのステップを阻害するか調査した。その結果、フラグメントAおよびフラグメントB に対する抗体(各2クローン)のいずれも、主に毒素が受容体へ結合するステップを阻害することにより中和活性を発揮することが明らかとなった。これは酵素活性部位であるフラグメントAに対する抗体も立体障害により毒素が受容体へ結合するのを阻害していると考えられた。現在、さらに標準ジフテリア抗毒素を用いて同様の試験を行い、国際単位による比較を行っている。