

HTLV-Iのenv蛋白gp46に対する単クロン抗体

戸澤秀樹^a, 田中勇悦^a, 志田壽利^b, 丹生谷博^c

要約: 成人T細胞白血病(ATL)ウイルス(HTLV-I)のリコンビナント env-gp46 抗原に対する IgG2bタイプのラット単クロン抗体の作製に成功した。間接蛍光抗体法により、未固定及び、メタノール固定した MT-2、HUT102 などの HTLV-I 感染細胞と反応したが HTLV-I 非感染細胞とは反応しなかった。Western blot (WB) 法による解析で、MT-2 細胞可溶化サンプルを用いたとき gp68 のみ検出され、Con-A セファロースで糖蛋白を濃縮すると gp46 も検出された。MT-2 細胞の培養上清の濃縮糖蛋白画分には gp46 蛋白のみ検出された。HUT102 細胞の可溶化サンプルの場合には約 53KD の抗原が検出され、濃縮糖蛋白画分に gp46 抗原も検出された。HTLV-I に関連のない細胞では、この抗体と反応する特異的な抗原はみられなかった。これらの結果から、得られた抗体は変性及び未変性の gp46 抗原と特異的に反応することが判った。

見出し語: HTLV-I、env-gp46、単クロン抗体

研究方法: Lewis 系雌ラットに、HTLV-I 全 env 遺伝子を組み込んだワクシニアウイルス (HTLV-I-proenv-VV)¹⁾ で感染後 24 時間のラットミエローマ細胞 YB2/0 を静脈注射した。2 週後、リコンビナント env 蛋白 N147 (gp46-env 遺伝子の C 末端側 147 アミノ酸に相当する部分を、カイコのウイルスであるバキエロウイルスバクターに組み込み、これを感染させ

たカイコの細胞 BmN より精製したもの) (丹生谷、未発表) を追加免疫した。3 日後に脾を取り出し脾細胞と YB2/0 細胞とを Herzenberg and Oi らの方法の変法²⁾ により 10:1 の比率でポリエチレングリコール (分子量 2000) を用いて細胞融合した。約 2 週後に、ハイブリドーマの上清に関して、MT-2 と Raji 細胞の混合標品を抗原として蛍光抗体染

a: 北里大学衛生学部 (Dep. of Immunology, School of Hygienic Sciences, Kitasato Univ.)、
b: 京大ウイルス研 (Inst. of Virus Res., Kyoto Univ.)、c: 国立がんセンター (Nat. Cancer Center Res. Inst.)

色 (IF) を行いスクリーニングした。陽性の抗体を産生するハイブリドーマについて、限界希釈法により2回クローニングを行い、IgG2bタイプの抗体を産生する細胞株1種を得た。

結果: 1) IF法による解析(表); HTLV-1 感染細胞や、HTLV-1-proenv-VV 感染 HeLa 細胞の細胞膜や細胞質で陽性の反応が認められたが、HTLV-1 に関連のない細胞とは反応しなかった。MT-2 や HUT102 細胞では未固定の細胞においても細胞膜が陽性に染まった。HTLV-1 に関連の深いサルに自然感染している STLV-1 感染細胞や HTLV-II 感染細胞とはほとんど反応しなかった。PtM3 細胞で僅かに陽性の傾向がみられたに過ぎなかった。

2) WB法による解析(図); 可溶化 M T-2 細胞を抗原として用いたときには、主に

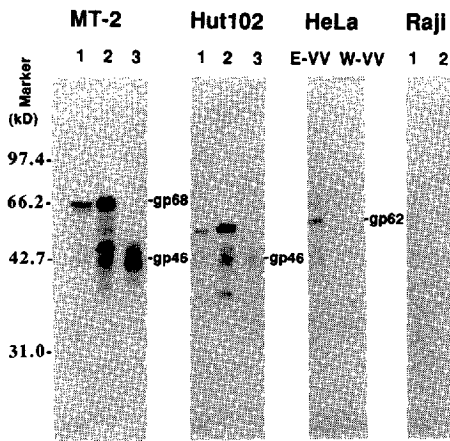
gp68 が検出された。可溶化細胞から Con-A 結合セファロースにより糖蛋白を分離濃縮して抗原とした場合には、かなり幅の広い gp46 のバンドと、gp68 (env と pX との hybrid 遺伝子由来) のバンドが認められた。同じようにして得られた細胞培養上清の糖蛋白を抗原としたときには、gp46 の幅広いバンドだけが認められた。可溶化 HUT102 細胞を用いた場合には、gp46 に加えて約 53KD の位置にこの抗体と反応する糖蛋白が認められた。HTLV-1-proenv-VV を感染させた HeLa 細胞では gp62 が認められた。また、カイコの細胞で作製したリコンビナント env 蛋白 N147 は約 18KD の抗原として検出された(データは省略)。なお、調べた限りの HTLV-1 に関連のない細胞ではこれらの抗原は検出されなかった。

Reactivity of a New Rat Monoclonal Antibody (REY7) with Cell Lines, Examined by an Indirect Immunofluorescence Assay

Cell	anti-p19	anti-gp21	REY7
(Fixed cell smear)			
MT-2	+	+	+
HUT102	+	+	+
F-Taj	+	+	+
Molt-4	-	-	-
Raji	-	-	-
HeLa	-	-	-
HeLa (wild VV)	-	-	-
HeLa (env VV, gp21/46)	-	+	+
HeLa (pX VV)	-	-	-

PtM-3 (PT-STLV-I)	+	+	+
GM0650 (GM-STLV-I)	+	-	-
JM86 (JA-STLV-I)	+	-	-
Ton-1 (HTLV-II)	+	+	-

(Live cell)			
MT-2	-	+	+
HUT102	-	+	+
Raji	-	-	-
Molt-4	-	-	-



1: Whole cell lysates
2: Cell lysate glycoproteins
3: Culture supernatant glycoproteins

考察： HTLV-I-env蛋白gp46に対するラットの単クローン抗体の作製に成功した。得られた抗体は、1) HTLV-I感染細胞、HTLV-I-pro env-VV 感染細胞、gp46 C末端半分のリコンビナント蛋白 N147 と特異的に反応する。2) これらの細胞や抗原との反応において認められた分子は、いずれも env-gp46 蛋白との特異的反応性を裏付けるものであった。3) HTLV-I と関連性のない細胞や抗原とは反応しなかった。4) I F法で、固定及び未固定の HTLV-I 感染細胞のいずれにおいても反応した。従って、この抗体は HTLV-I-gp46 に高い特異性を有し、そのC末端半分の領域にある抗原決定基を認識すると結論された。この抗体が認識する抗原決定基と HTLV-I-env 機能との関連についての検索は現在進行中である。

我々は長年色々な方法で HTLV-I 感染細胞より gp46 を高濃度に含むと考えられる糖蛋白を分画し、それを抗原としてマウス単クロー

ン抗体作製を試みてきた。これまでに成功しなかった理由として、マウスが HTLV-I の env 蛋白に対し低応答性という可能性、または、抗原として用いた蛋白量が十分でなかったことによると考えられる。この抗体の作製の成功により gp46 蛋白を分離することが容易になり、この蛋白の詳細な抗原構造の解析に役立てることが出来る。そのほかに、HTLV-I に関する各方面の研究、及び診断と診断手技の妥当性の検討などに利用可能と思われる。

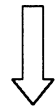
文献

- 1) Shida, H. et al.: Effect of the recombinant vaccinia viruses that express HTLV-I envelope gene on HTLV-I infection ; EMBO J., 6, 3379, 1987
- 2) Tanaka, Y. et al.: A monoclonal antibody recognized an antigen of human lymphocytes similar or identical to Tac antigen; Microbiol. Immunol., 28, 1041, 1984



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:成人 T 細胞白血病(ATL)ウイルス(HTLV-1)のリコンビナント env-gp46 抗原に対する IgG2b タイプのラット単クローン抗体の作製に成功した。間接蛍光抗体法により、未固定及び、メタノール固定した MT-2、HUT102 などの HTLV-1 感染細胞と反応したが HTLV-1 非感染細胞とは反応しなかった。Western blot(WB)法による解析で、MT-2 細胞可溶化サンプルを用いたとき gp68 のみ検出され、Con-A セファロースで糖蛋白を濃縮すると gp46 も検出された。MT-2 細胞の培養上清の濃縮糖蛋白画分には gp46 蛋白のみ検出された。HUT102 細胞の可溶化サンプルの場合には約 53KD の抗原が検出され、濃縮糖蛋白画分に gp46 抗原も検出された。HTLV-1 に関連のない細胞では、この抗体と反応する特異的な抗原はみられなかった。これらの結果から、得られた抗体は変性及び未変性の gp46 抗原と特異的に反応することが判った。