

目的 オボアルブミン (OVA) のトリプシン、キモトリプシン、ペプシン消化ペプチドの抗原性と一次構造を調べ、そこに含まれるエピトープ部位を明らかにすることを目的とした。

方法 OVAを、トリプシン、キモトリプシン、またはペプシンで 24 時間消化し、得られた消化ペプチドを、トリシン-SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により分子量ごとに分離した。抗原性を示すペプチドの検出は、ゲルからニトロセルトース膜へ、ウェスタンブロッティング法で転写した後、抗OVA・ウサギ血清 I g G抗体を用いた抗原抗体反応により行った。抗原性を示すペプチドの一次構造は、ゲルからPVDF膜へプロットしたペプチドを、気相シーケンサーでN末端アミノ酸分析を行うことで推定した。

結果 抗原性を示すペプチドは、トリプシン消化で分子量 5,500 以上、キモトリプシン消化で分子量 8,000 以上、ペプシン消化で分子量 8,200 以上に検出できた。一次構造を推定したペプチドは、トリプシン、キモトリプシン、ペプシン消化でそれぞれ 9、8、7 種類であった (このうち、抗原性を示すペプチドはそれぞれ 8、6、3 種類)。これらのアミノ酸配列のうち、抗原性を示す領域が重複する部分、および抗原性を示さない領域との関連から、エピトープと考えられる部位の一部は、Asn15~Met172 の間に存在することが示唆された。今後、この領域のペプチドを合成し抗体産生の有無を検討する予定である。