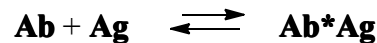


## 問題 26. 複合体形成の分析

抗体 (**Ab**) とは特定の抗原 (**Ag**) (普通はタンパク質あるいは多糖類である) と選択的に結合できるタンパク質であり、いわゆる免疫複合体 **Ab\*Ag** を形成する。この過程の結合定数  $K_b$  は約  $10^9$  と非常に高いものの、結合形成は可逆的である。



生体で起きていることは複雑に見えるが、よくある抗原抗体複合体 **Ab\*Ag** の形成反応では、抗原 **Ag** と抗体 **Ab** を単にそれぞれ標的と追跡者のように扱うことでその働きを分析できる。しかも、他の標的化学種 (酵素阻害剤、脂肪、金属イオン等) と特異的に結合するタンパク質についても同様の手法で分析することができる。

1.  $K_b$  を平衡状態の濃度  $[\mathbf{Ab}]$ ,  $[\mathbf{Ag}]$ ,  $[\mathbf{Ab*Ag}]$  の関数として表しなさい。(抗原と抗体は 1 対 1 で結合すると考えなさい。)

パラメーター  $n$  は抗体 **Ab** 1 分子あたりと結合する抗原分子 **Ag** の平均個数である。抗体 **Ab** に結合部位が 1 つしかない場合には、 $0 \leq n \leq 1$  である。

2. 抗体分子 **Ab** に結合部位が 1 つしかないという最も単純な場合について、 $n$  を  $K_b$  と平衡状態において遊離している抗原の濃度  $[\mathbf{Ag}]$  を使って表しなさい。結合の過程で  $K_b$  は変化しないと想定しなさい。 $n$  と  $[\mathbf{Ag}]$  の関係を表すグラフを模式的に描きなさい。(抗原 **Ag** による抗体 **Ab** の滴定曲線に相当する。)

より簡単で信頼できる分析のために、滴定曲線は座標を点線でつなげて良い。

3. a) 実験データ A (下記を見よ) に関し、 $[\mathbf{Ab*Ag}]/[\mathbf{Ag}]$  対  $[\mathbf{Ab*Ag}]$  のプロットを行いなさい。
- b)  $[\mathbf{Ab*Ag}]/[\mathbf{Ag}]$  を  $[\mathbf{Ab*Ag}]$  の関数として表しなさい。
- c) 実験データ A はデータの 1 つが不適切に得られた。プロット上でその異常値を丸で囲みなさい。
- d) このプロット分析から  $K_b$  を決定する方法を示しなさい。

- e) 同じグラフ上に、ADP が ( $\text{ADP} \cdot \text{Mg}^{2+}$  複合体形成の時と比べて)  
 $K_b$  の値が 10 倍高い別の標的と結合するときの曲線を模式的に描きなさい。

実験データセット A

ADP タンパク質は  $\text{Mg}^{2+}$  と 1:1 で (ADP の単一の結合部位に、 $\text{Mg}^{2+}$  が 1 つ結合する) 複合体を形成する。 $K_b$  は  $n$  に依存しない。ADP の総濃度は  $80\mu\text{M}$  に一定に保たれている。

$\text{Mg}^{2+}$ の総濃度, $\mu\text{M}$	結合している $\text{Mg}^{2+}$ の濃度, $\mu\text{M}$
20.0	11.6
50.0	26.0
100	42.7
150	52.8
200	59.0
300	61.1
400	69.5

1 つの抗原分子にしか結合できない抗体もあるが、2 つ (あるいはもっと多く) の抗原分子と結合する抗体も存在する。1 つの抗体分子 **Ag** に結合できる最大の抗原分子 **Ab** の数を、抗体の価数と呼ぶ。

## 実験データセット B

ある酵素の阻害剤 **I** は酵素の複数の異なる結合部位に対して独立に結合する。各結合部位に対して  $K_b$  は同じ値である。酵素の総濃度は  $11\mu\text{M}$  に一定に保たれている。

<b>I</b> の総濃度, $\mu\text{M}$	遊離している <b>I</b> の濃度, $\mu\text{M}$
5.2	2.3
10.4	4.95
15.6	7.95
20.8	11.3
31.2	18.9
41.6	27.4
62.4	45.8

4. a)  $[\text{Ab}^*\text{Ag}]/[\text{Ag}]$  対  $[\text{Ab}^*\text{Ag}]$  のプロット分析から抗体の価数を決定するための式を導きなさい。
- b) 上記の座標を使って実験データ B のプロットを行いなさい。酵素の価数を決定しなさい。

抗体試薬はしばしば抗原と結合できない他のタンパク質を不純物として含んでいる。このため、既知の全抗体濃度は機能的に活性のある抗体と、反応性のないタンパク質の両方を含んでいる。

5. a)  $[\text{Ab}^*\text{Ag}]/[\text{Ag}]$  対  $[\text{Ab}^*\text{Ag}]$  のプロットデータを分析することで、実際の抗体の濃度を決定する方法を示しなさい。
- b) 実験データ A において ADP 試薬は反応性を持たない不純物を含んでいるか。
- c) 実験データ B において酵素試薬が反応性を持たない不純物を含んでいるかどうかはつきり結論付けることは不可能であるのはなぜか。不純物の濃度を決定するためにはどのようなデータが足りないか。