

マウスとラットの両方の抗体があると便利

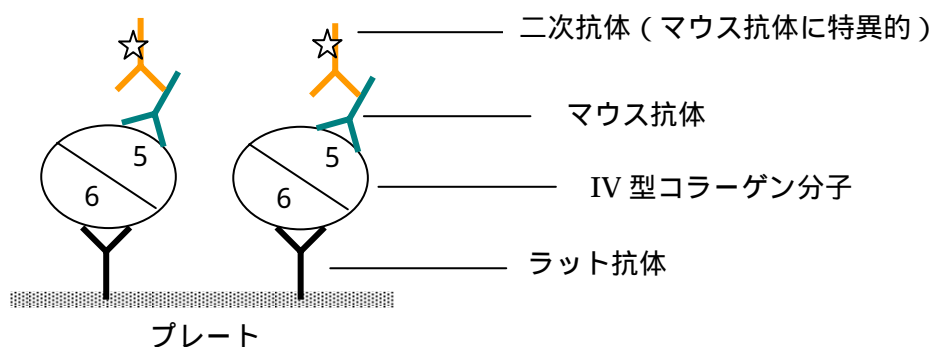
重井医学研究所
免疫部門 佐渡義一
07/2/23; 08/1/10

私たちはモノクローナル抗体の作製法の研究を行い、腸骨リンパ節細胞を細胞癒合に用いると良いことを発表してきた。ラットリンパ節法を 1995 年に、マウスリンパ節法を 2006 年に報告した。これらの方法は現在日本中に広がりつつあると信じている。

最近私たちはモノクローナル抗体作製方法の研究から元の腎炎の研究に戻り始めている。もちろん、私たちの研究は自己抗体で起きる自己免疫疾患なのでモノクローナル抗体の作製から離れているわけではない。モノクローナル抗体を作製する技術者としての側面から、モノクローナル抗体を利用する研究者としての側面が強くなりつつある。抗体を利用する側への視点が変わったことにより、気が付いたことが一つある。

それは「マウスとラットの両方の抗体があると便利」ということである。私たちは自己免疫疾患の原因抗原である IV 型コラーゲンの研究をしている。IV 型コラーゲンには遺伝子の異なる 6 種類の鎖があり、鎖が 3 本集まって三重らせん構造の IV 型コラーゲン分子を形成している。分子には 3 種類の鎖の組み合わせが知られている。ヒトの 6 種類の鎖を識別するモノクローナル抗体はすでにできているが、今回、マウスリンパ節法の研究の延長で新たにマウスのモノクローナル抗体を作製した。その結果、ヒトの IV 型コラーゲンをラットとマウスの両方の抗体で検出できるようになった。両方の抗体があることからサンドイッチエライザが簡単にできるようになった。その結果、抗原の解析が簡単にできるのである。6鎖の抗体をエライザプレートに吸着させる実験では 6鎖が 5鎖と結合した状態であることが簡単に証明できた(図1)。プレートに吸着させたモノクローナル抗体は高濃度培養(回転培養)して MEP ゲルアフィニティカラムで精製したものをを用い、ヒト抗原は未精製のものを用いた。マウス抗体は培養上清を用いた。

図 1



このようなことができるのも、種の異なる 2 種類のモノクローナル抗体が簡単にできるお陰である。サンドイッチエライザは抗原の定量に利用されることが多いことから、抗原の同定、識別、解析ばかりではなく、モノクローナル抗体を用いた定量にまで役立つものと期待される。マウスとラットの両方でモノクローナル抗体が作製できることには思わぬ利点があった。

ラットリンパ節法とマウスリンパ節法の文献

ラットリンパ節法:

1) Kishiro Y, Kagawa M, Naito I, Sado Y. 1995

A novel method of preparing rat-monoclonal antibody-producing hybridomas by using rat medial iliac lymph node cells.

Cell Struct Funct. 20: 151-156.

(PubMed 経由でpdfファイルを得ることができる。)

マウス腸骨リンパ節法:

2) Sado Y, Inoue S, Tomono Y and Omori H. 2006

Lymphocytes from enlarged iliac lymph nodes as fusion partners for the production of monoclonal antibodies after a single tail base immunization attempt

Acta Histochem. Cytochem. 39: 89-94.

(日本組織細胞化学会のホームページからpdfファイルを得ることができる。Google 検索で sado inoue tomono omori と入力して検索すると見つかる。)

3) 佐渡義一 2006

抗原エマルジョンを尾根部筋肉内注射したマウスの腫大腸骨リンパ節を用いたモノクローナル抗体の作製 (Sado Y. 2006 Production of monoclonal antibodies by using lymphocytes from enlarged iliac lymph nodes of mice immunized intramuscularly at the tail base)

生化学 78: 1092-1094.

4) 佐渡義一 2007

モノクローナル抗体の作製

組織細胞化学 2007、pp55-77、学際企画

(リンパ節法によるモノクローナル抗体の作製の詳しいプロトコルである。)