

遺伝子組み換えによる抗ヒトコリンアセチルトラン スフェラーゼ・モノクローナル抗体作製

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-06-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Oda, Yoshio メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00066259

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



遺伝子組み換えによる抗ヒトコリンアセチルトランスフェラーゼ・モノクローナル抗体作製

Research Project

All

Project/Area Number

07670198

Research Category

Grant-in-Aid for General Scientific Research (C)

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

Human pathology

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

小田 恵夫 金沢大学, 医学部, 講師 (70169316)

Project Period (FY)

1995

Project Status

Completed (Fiscal Year 1995)

Budget Amount [*help](#)

¥1,100,000 (Direct Cost: ¥1,100,000)

Fiscal Year 1995: ¥1,100,000 (Direct Cost: ¥1,100,000)

Keywords

組み換えDNA / リコンビナントファージ / コリンアセチルトランスフェラーゼ / ヒト / モノクローナル抗体

Research Abstract

I. ヒトコリンアセチルトランスフェラーゼ(ChAT)蛋白によるマウスの免疫

ヒトChAT蛋白を発現するために開発した形質転換大腸菌の培養液にIsopropyl- β -D-thiogalactopyranosideを加え蛋白を誘導した後、電気泳動法により分離・精製した。ChAT蛋白0.1mgをアジュバンドとともにBALB/Cマウスの下肢に週1回注射した。合計20匹のマウスを6回ずつ免疫した後、屠殺して鼠径部の腫大したリンパ節を採取した。

II. リコンビナントファージシステムを用いたモノクローナル抗体の作製

(1)リンパ節からmRNAを抽出し、reverse transcriptaseによりcDNAを合成した。次いで、免疫グロブリンのL鎖V領域とH鎖V領域を各々PCRによって増幅した後、両者をリンカーで結合した。これを抗体産生のために開発されたファージミド(pCANTAB 5E)に挿入し、大腸菌(TG 1)に感染させた。

(2)この大腸菌にヘルパーファージ(K07)を感染させて組換えファージミドを取り込ませた。次いで、ChAT蛋白を塗布したプレートにファージを接触させ、抗原と結合するファージを回収した。

(3)このファージを再度大腸菌に感染させ、コロニーを形成しクローン化した。クローン1つ1つを分離し、これにヘルパーファージを感染させて組換えファージミドを取り込んだファージを回収した。

(4)発現ChAT蛋白と抗ファージ抗体を用いたELISA法により、目的とする抗体を発現しているファージをスクリーニングしたところ、大腸菌コロニー約100個当たり1個の割合で陽性ファージクローンを含んでいた。合計80個の陽性クローンの中で抗体価の特に高い2個のクローンを選択し、このファージを別の大腸菌(HB2151)に感染させ、可溶性の抗体を産生した。その後、アフィニティカラムにより抗体を精製した。現在、得られた抗体が免疫組織化学及び免疫電顕に適用できるかどうか検討中である。

Report (1 results)

1995 Annual Research Report

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-07670198/>

Published: 1995-03-31 Modified: 2016-04-21