

免疫及びスクリーニングに用いるリン酸化ペプチドの合成、 抗体作製とスクリーニングと特異性評価

(株) 医学生物学研究所 蜂矢 隆久

本事業において作製された12種類の抗リン酸化hUPF1(Ser1096)抗体の中で、特に有用と判断された2クローン(3B8、8E6)について量産化を前提とした作製法の検討を行った。

一般にマウスモノクローナル抗体の大量調整法は、細胞培養のスケールアップ(以下:培養上清法)、あるいはマウス腹水調整(腹水法)が行われる。培養上清法は腹水法と比較して生産性は劣るものの、生産される抗体の質的な劣化が少ない。一方、腹水法は生産性には優れるものの、場合により産生抗体の質的な劣化を伴う事がある。この劣化現象は抗体産生ハイブリドーマに起因する場合があるため、腹水調整に際しては検討が必要である。次に、調整した培養上清や腹水から抗体本体であるマウスIgGを精製する場合、固定化したProtein AあるいはProtein Gによるアフィニティー精製が行われる。

この際、個々のIgGの特性によりアフィニティーカラムへの結合条件、および溶出条件が異なる。特に溶出条件は抗体の特異性に影響を及ぼす事もあるため、品質確保の上から最適な溶出条件を決定することは重要である。

安定的な抗体産生のため、上記2点の条件検討を詳細に行った。

(1) 生産方法

・3B8

培養上清法において産生された抗体の質は問題なく、培養上清中の抗体濃度は12 μ g/mlであった。

腹水法において産生された抗体はウエスタンブロット法においてバックグラウンドノイズの上昇が認められ、品質への影響が懸念された。

腹水中のIgG濃度は1.7mg/mlであった。

・8E6

培養上清法において産生された抗体の質は問題なく、培養上清中の抗体濃度は26 μ g/mlであった。

腹水法において産生された抗体の質は問題なく、腹水中のIgG濃度は2.2mg/mlであった。

(2) 精製方法

3B8、8E6共に溶出条件がpH3.0以下になるとウエスタンブロット法においてバックグラウンドノイズの上昇が認められ、品質への影響が懸念された。