

整理番号	14大-9
------	-------

育成試験の名称	新規大腸菌下痢毒素 EAST1 へのモノクローナル抗体の作製と抗体を利用した検出方法の開発
実施機関及び担当者	大阪府立大学 大学院 農学生命科学研究科 助教授 鎌田 洋一
育成試験の目的	
<p>最も新しく発見された大腸菌下痢毒素と認識されつつある EAST1 に対してモノクローナル抗体を作製する。抗体を用いて EAST1 を検出する方法を開発する。EAST1 の遺伝子は同定されており、遺伝子検索は現在実施されている。食中毒の確定診断のためには病原因子の遺伝子だけでなく、遺伝子産物である毒素そのものの検出が必須となる。本育成試験の目標は、EAST1 産生大腸菌による食中毒を確定診断し、大腸菌疫学情報を刷新することにある。そのために、抗体と組換え EAST1 ペプチドを用いた免疫学的な EAST1 検出方法を開発する。</p>	
試験方法	
試験項目	内容
モノクローナル抗体の作製・精製、力価検定	組み換え EAST1 の作成方法を確立する。それを抗原とし、モノクローナル抗体を作製し、EAST1 特異的なモノクローナル抗体を確立する。
抗体の毒素検出系への応用・最適化	特異モノクローナル抗体を用い、EAST1 を検出する方法を開発する。検出系は種々考えられるので、抗原である EAST1 の性状と抗体の力価に応じ、検出方法を検討する。
予算額	200万円
試験結果	
<p>組み換え EAST1 ペプチドの作成方法を確立した。組み換え EAST1 のペプチド化学的性状、抗原性状を把握した。組換え EAST1 ペプチドを用いて、モノクローナル抗体を7種作成した。そのうち5種類を精製し、EAST1 に最適化された測定系を用いてスクリーニングした結果、2種が EAST1 特異性を示した。これら2種類のモノクローナル抗体を用い、また残り2種のスクリーニングを行い、EAST1 を検出する ELISA 法を確立する。ELISA 法には競合法、サンドイッチ法、ビオチン - アビジン増幅法などが適応でき、EAST1 ペプチドの抗原性状を把握できたことから、ELISA 法の確立にはさほどの困難は伴わないと予定している。</p>	
現在の状況及び今後の展開方策	
<p>平成14年度に産業創造研究に採択され、作製した抗体の力価を検定したところ、毒素の部分ペプチドには高率に反応するものの、毒素分子そのものへの反応力価が低いことがわかった。</p> <p>数多くのトライアンドエラーの結果、優秀な抗体が作製されるので、免疫やスクリーニング方法を変更し、抗体の作製選抜を継続する。</p>	