

整理番号	12大-10
------	--------

育成試験の名称	一酸化窒素合成酵素を特異的に認識するモノクローナル抗体の作成
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 獣医学専攻 細胞分子生物学研究室 教授 津山 伸吾
育成試験の目的	
<p>生体内多機能分子である一酸化窒素の合成酵素3種、神経細胞型(nNOS)、内皮細胞型(eNOS)、誘導型(iNOS)はアルツハイマー症、感染症、循環器疾患、勃起不全、不妊症などの治療、診断の研究対象になっている。当該研究者らは一酸化窒素の生理的研究を行う課程で中枢神経系、消化器系や心血管系での神経調節に関与しているnNOSに対するモノクローナル抗体の作成を試み、良好な結果を得た。当該研究者らは、抗nNOSモノクローナル抗体の性質の調査、酵素結合免疫測定法、免疫組織染色などの他の検出方法への適用を検討すること、また、他の2種のアイソフォーム(eNOS、iNOS)に対するモノクローナル抗体を作成し、上述と同様に特異性等と応用面を検討することを目的とした。</p>	
試験方法	
試験項目	内容
抗nNOSモノクローナル抗体の性質の調査	抗体の特異性の調査。サブクラスの同定。エピトープ解析。抗体分子の一次構造の解析。検出方法として、酵素結合免疫測定法、免疫組織染色の検討。
eNOS、iNOSに対するモノクローナル抗体の作成および性質の調査	抗原となるマウスマクロファージ由来iNOSの精製、組換え体ヒトeNOS、マウスiNOSの大腸菌内での発現、精製。マウスへの免疫、細胞融合、抗体産生ハイブリドーマの選抜。抗体の特異性の調査。サブクラスの同定。
予算額	250万円
試験結果	
<ul style="list-style-type: none"> ・抗nNOSモノクローナル抗体の性質の調査 本モノクローナル抗体は、ラット脳抽出タンパク質中nNOSのみを認識した。サブクラスは、IgG1で、ラットnNOSのアミノ酸1004-1229に相当する組換えタンパク質と反応した。可変領域の一次構造は新規のものであった。酵素結合免疫測定法、蛍光免疫染色に適用可能であった。 ・eNOS、iNOSに対するモノクローナル抗体の作成および性質の調査 抗原となるiNOSの精製し、抗iNOSモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを1クローン得た。産生抗体はIgMであった。マウスマクロファージより抽出したタンパク質中iNOSと反応した。組換え体eNOSに対するモノクローナル抗体は現在選抜中である。組換え体iNOSに対するモノクローナル抗体は現在免疫中である。 	
現在の状況及び今後の展開方策	
<p>nNOSモノクローナル抗体は特許出願(特願2001-355084)を行った。一酸化窒素合成酵素全3種のそれぞれを特異的に認識できる3種のモノクローナル抗体が完成した段階でキットとして商品化する予定にしている。</p>	