ニワトリモノクローナル抗体を利用した簡易検査薬の開発

育成研究：ＪＳＴイノベーションプラザ広島　平成 16 年度採択課題
「ニワトリモノクローナル抗体を利用した簡易検査薬の開発」

代表研究者：広島大学大学院　生物圏科学研究科

教授　松田治男

■ 研究概要

哺乳類間で相同性が高く、心筋梗塞診断マーカーとして利用されているヒト心臓型脂肪酸結合蛋白(H-FABP)に対する組換えニワトリモノクローナル抗体を作出し、大量調製に成功した。当該ニワトリ抗体と既存マウス抗体を組合わせることにより、血中の異好性抗体等による非特異反応を回避した特異性の高い H-FABP 検出用の実用的免疫クロマトシステムを構築した。

■ 研究内容、研究成果

【抗 H-FABP ニワトリモノクローナル抗体(完全型 IgY)の調製】　ファージディスプレイ法により得た 10 種の抗 H-FABP ニワトリ抗体可変部遺伝子から完全型 IgY 発現ベクターを作製し、CHO-K1 細胞に形質導入した。既存マウス抗体と組合わせた H-FABP 検出に適した完全型 IgY を選択し、大量発現細胞を作製した。培養上清より安定な完全型 IgY を得るための精製法を確立した（図 1)。
【抗 H-FABP 完全型 IgY の大量調製】　完全型 IgY 発現細胞培養上清１L 当り、45 mg の精製抗体を得ることが出来た（図 2)。医療用診断薬として使用可能な精製度、保存安定性を有する組換えニワトリモノクローナル抗体の調製に成功したのは、本研究が初めてである。
【非特異反応回避システムの構築】　従来のマウス抗体等の哺乳類抗体のみを用いた免疫学的測定法においては、ヒト抗マウス抗体（HAMA）やリウマチ因子などにより、非特異反応が起こることが知られている。ニワトリ抗体とマウス抗体を組合わせたシステムにより、このような非特異反応を回避出来ることを確認した。一方、ニワトリ抗体のみを用いたシステムにおいても非特異反応が起こることが確認され、非特異反応を回避するシステムを構築し、特許出願を行った。更に、この非特異反応の原因物質として、ニワトリ抗体に特異的に反応するヒト抗ニワトリ抗体(human anti-chicken antibody：HAChA)を同定した。
【H-FABP 測定／検出システムの構築】　抗 H-FABP ニワトリモノクローナル抗体とマウスモノクローナル抗体を組合わせて、実用的感度を有した ELISA 法および免疫クロマト法を構築した（図 3)。

■ 今後の展開、将来の展望

本プロジェクトで開発されたニワトリモノクローナル抗体の調製法並びにそれを応用した簡易検査システムは、広くさまざまな抗原に対して応用可能な技術である。ニワトリを活用することで、マウスでは作製出来ないような新たなエピトープを認識する抗体作製が可能となるばかりでなく、マウス抗体に代わる有用性の高いツールとして、医療用診断薬のみならず、食品検査、環境検査分野などでの応用が期待される。また、マウス抗原に対する抗体や各種検査薬の開発も可能であり、疾患モデルマウスの病態解明にも応用可能である。今後、検査用マーカーを保有する研究機関、企業との共同研究により、幅広い分野での実用化が期待される。

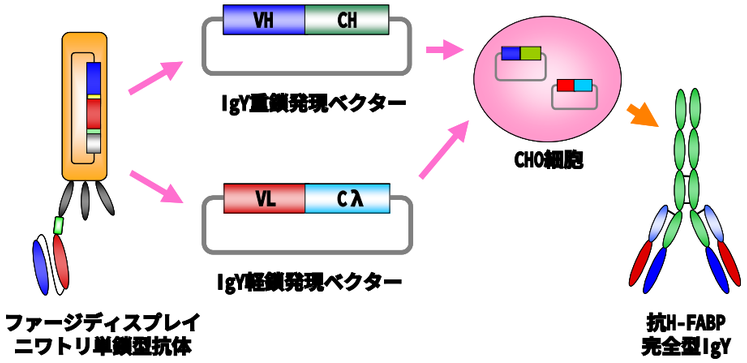

図 1．抗 H-FABP ニワトリモノクローナル抗体（完全型 IgY）の調製

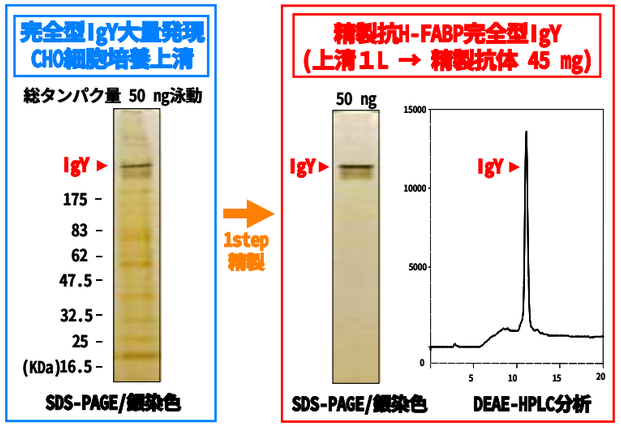

図 2．抗 H-FABP 完全型 IgY の大量調製

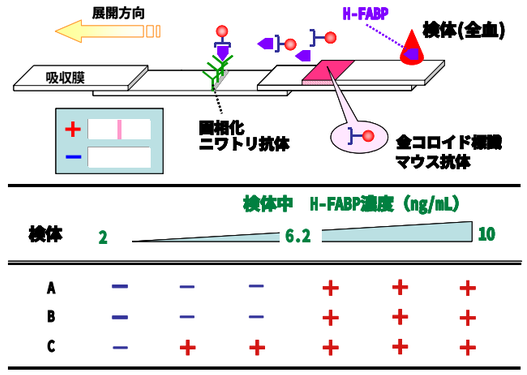

図 3．免疫クロマト法による H-FABP 検出システム

■ 研究体制

- **代表研究者**
  広島大学大学院　生物圏科学研究科　教授　松田治男
- **研究者**
  青笹正義（科学技術振興機構)、西道教尚（科学技術振興機構)、
  岡　孝紀（湧永製薬)、兼澤富士子（湧永製薬)、久保裕之（湧永製薬）
  大軽靖彦（大日本住友製薬)、中元秀剛（DS ファーマバイオメディカル）
- **共同研究機関**
  広島大学大学院、科学技術振興機構
  湧永製薬株式会社、DS ファーマバイオメディカル株式会社

■ 研究期間

平成１７年４月　～　平成２０年３月