

# 食物アレルギーに対するヒトモノクローナル抗体作製技術

## 研究のねらい

抗体を用いた食物アレルギーの解析には、これまでアレルギー患者の血清が用いられてきたが、抗体価にばらつきがあり、安定して食物アレルギー研究に供給できなかった。そこで本成果では、食物アレルギーに対するヒトモノクローナル抗体を安定して分泌する細胞株作製技術を提供する。

## 研究の成果

ヒト末梢血リンパ球にエプスタインバールウィルスを感染させ、形質転換して不死化し、抗体を分泌するヒト不死化B細胞を作製する（写真1）。培養上清に含まれる抗体を測定し、食物アレルギーに対する抗体分泌細胞を選別する。

ヒト不死化B細胞はクローニングが困難なため、マウスミエローマ（骨髄腫）細胞と細胞融合する。用いるミエローマ細胞はアミノプテリン存在下で死滅する。これにさらにウアバイン耐性を付与した株を細胞融合に用いる。不死化B細胞はアミノプテリン存在下で増殖するが、ウアバイン存在下では死滅する。ミエローマ細胞はその逆である。このため、アミノプテリンとウアバインの両方の薬剤存在下では、不死化B細胞とミエローマ細胞が細胞融合したハイブリドーマのみが増殖する（写真2）。

ハイブリドーマ培養上清中の食物アレルギーに対する抗体を測定し、限界希釈法で抗体陽性細胞のクローニングを行って、食物アレルギーに対するヒトモノクローナル抗体分泌マウスーヒトハイブリドーマを得る。得られたヒトモノクローナル抗体を、免疫学的測定法による食物アレルギーの検出に用いることができる。これらの細胞は液体窒素中に保存され、必要に応じて解凍、培養することができる。

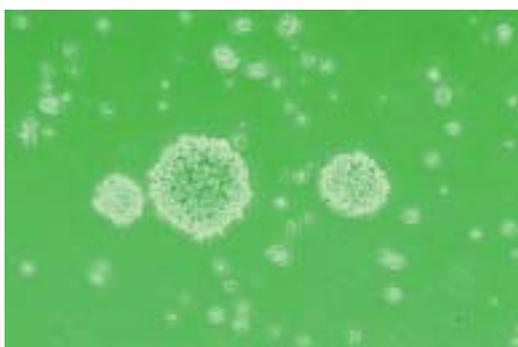


写真1 不死化B細胞  
（巨大な細胞塊を作って増殖する）



写真2 ハイブリドーマ  
（培養器に弱く接着しながら敷石状に増殖する）

## 成果の利活用

これまでに、米、ピーナツ等の食物アレルギーに対するヒトモノクローナル抗体の作製に成功した。本技術を用いれば、種々の食物アレルギーに対するヒトモノクローナル抗体を作製することが可能になり、アレルギー蛋白質の構造解析に利用できる。

不死化B細胞は、実際には、その増殖は有限であることが近年明らかにされた。長期間培養するとクライシスを起こして死滅することがある。目的の抗体を分泌する不死化B細胞は、なるべく早い時期にミエローマ細胞融合する必要がある。

成果の発表年 平成13年度

（問合せ先：作物機能開発部 生物工学研究室 019-643-3514）