

523 精子不活化抗体に特異的なイディオタイプ抗体の作製

兵庫医大

繁田 実, 川北雅子, 磯島晋三

〔目的〕精子不活化抗体 (SI-Ab) 保有不妊婦人は不妊症である事以外は全く健康であることから、人工的にこのSI-Abのみを誘起できる抗原が精製できれば非常に安全な避妊ワクチンと成りうる。本研究では我々がすでに樹立した不妊患者由来のヒト型モノクローナルSI-Ab (H6-3C4) に対する抗イディオタイプ抗体 (α id) が、代用抗原として避妊ワクチンに応用可能か否かを分析する目的でまず α id の作製並びにその特異性分析を行なったので報告する。〔方法〕精製 H6-3C4 抗体 [IgM (λ)] をアジュバントと共に Balb/c マウスに免疫し α id を作製した。得られた抗血清はヒト γ -globulin 結合セファロースカラムにて吸収した後、その特異性を ELISA 及び精子不活化試験にて分析した。〔成績〕吸収 α id 血清は免疫に用いたモノクローナル抗体 MabH6-3C4 及び MabH6-3C4 と同じ特異性を持ちながら IgG₁ に遺伝子工学的手法で class switch した抗体 En46A4 にのみ反応し、特異性の異なるヒト型 MabH9-1C₂ [IgM (λ)] やプールしたヒト IgM 及びプールしたヒト IgG₁ には反応しなかった。さらに、この α id 血清は精子不活化試験において MabH6-3C4 及び En46A4 の不活化活性は中和するが、他の精子不活化モノクローナル抗体 (1C4, 2C6, 2E5, 1A11, 1G12, YTH-3, S-1) のそれはいずれも中和しなかった。〔結論〕MabH6-3C4 に対する α id 血清中には MabH6-3C4 の Variable region に対する特異性の高い α id 抗体が含まれている事を示しており、この α id 抗体を用いれば抗 α id 抗体 (Ab3) すなわち不活化抗体を誘起する代用抗原としてワクチンに応用できると考えられる。

524 大量発現型ベクターを用いた精子不活化モノクローナル抗体産生細胞株の作成

兵庫医大

澤井英明, 山崎則行, 小森慎二, 霞 弘之, 磯島晋三

〔目的〕不妊症の発症に関与する精子不活化抗体の対応抗原を検索・解析するために、遺伝子組み換え技術を用いて、ヒト型精子不活化モノクローナル抗体 (SI-Mab) を大量にかつ安定的に産生する細胞株の作製を試みた。〔方法〕1) SI-Mab をコードする cDNA の単離: SI-Mab を産生する形質転換細胞株のひとつ En46 より mRNA を抽出し、それを鋳型に cDNA を合成、ファージベクター λ gt11 に組み込み cDNA ライブラリーを作成した。ヒト Ig の JH 及び C λ をプローブにして cDNA ライブラリーをスクリーニングし、En46 が産生するヒト SI-Mab の H 鎖及び L 鎖をコードする cDNA を単離した。2) 導入遺伝子の作成: 単離した L 鎖と H 鎖の cDNA をそれぞれ大量発現型プラスミドベクター BCMGS-Neo と BCMGS-Hyg に挿入した。3) 形質転換細胞株の作成: 作成した導入遺伝子を Ig 非産生性マウスミエローマ細胞 X63. Ag8 に transfection する。選択培地にて形質転換細胞株を選別する。〔成績〕ヒト SI-Mab をコードする遺伝子として約 1.5kb の H 鎖 cDNA と約 600b の L 鎖 cDNA の単離に成功した。現在これを遺伝子組み換え技術を用いて大量発現型ベクターに組み込み、形質転換細胞株を作製中である。〔結論〕ヒト・マウスヘテロハイブリドーマは多くの場合その安定性と産生効率に問題があり、長期間かつ大量にヒトモノクローナル抗体を得ることはきわめて困難である。その点を克服するために遺伝子組み換え技術を用いて SI-Mab を大量にかつ安定的に産生する細胞株の作製を試みた。この方法は各種モノクローナル抗体を大量かつ安定的に産生する細胞株の作製にそのまま応用可能で、対応抗原の検索等到大変有用であると考えられる。