

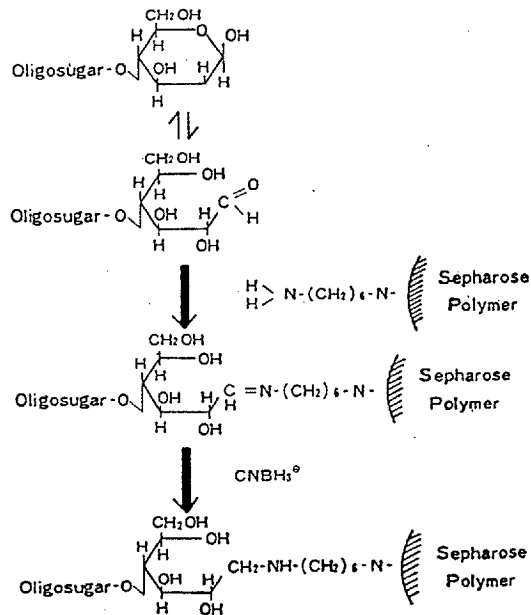
糖脂質抗体の特製とその応用

慈恵医科大学小児科 木口 薫
衛藤 義勝

糖脂質抗体をアフィニティークロマトグラフィーにより精製し、特異性の極めて高い抗体を得ることを試みた。この抗体を使うことによって、蓄積症における蓄積した糖脂質の細胞レベルでの局在を知ることができ、診断的あるいは蓄積物質の病態代謝の解明にその利用価値が高いと考える。現在糖脂質蓄積物質として galactocerebroside (GLD), glucocerebroside (Gaucher) そして Forssman 糖脂質については、すでに精度の高い抗体が得られたのでこれを中心に精製法を述べる。

Forssman 糖脂質は、ウマ、イヌ、ネコ、モルモットなどの臓器に含まれ、ヒトには存在しないと考えられていたが、最近、ヒトの胆のう癌、肺癌、腸癌、胃癌などに含まれることが認められ注目されている糖脂質である。ウマの腎臓より精製した Forssman 糖脂質を BSA とともに家兎に免疫し、この血清から硫酸画分および Sephacryl S-300 カラムで Ig-G 画分を得た。そして Forssman の糖鎖部分を結合させた AHSepharose カラムを通して Forssman 抗体を特異的にカラムに結合させ、0.1 M グリシン塩酸、3 M チオシアン酸ソーダで溶出した (図1, 図2)。得られた抗体は、酵素抗体法 (ELISA) で抗体価を測ると、各々の溶出画分で、400、および 500 倍の抗体価を得ることができた。そして得られた抗体は他の糖脂質とは全く反応しないことが確かめられた。この抗体を使って染色すると全血清で染色を行ったものと比較して、より特異的に臓器が染まることが判明した。(例えば、ウマの糸球体は全血清では染色されるが、アフィニティーを通したものでは染色されず、tubulus の上皮細胞のみが染色される)。このように、AHSepharose カラムと糖脂質糖鎖部分を結合させ、アフィニティークロマトを行うことにより、多くの糖脂質の特異性の高い抗体を得ることができ、蓄積症での組織学的解明に役立つと考える。

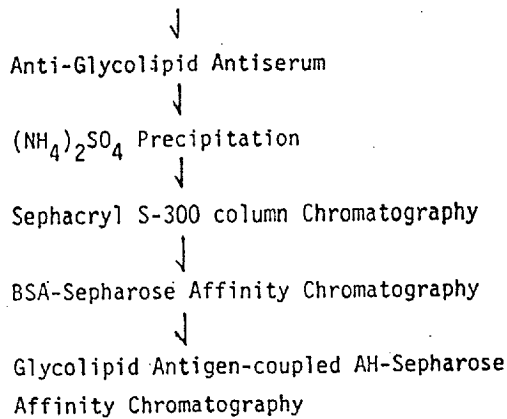
☒ 1 Coupling of Oligosugar to AH-Sepharose for Affinity Chromatography

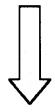


Elution of Antibody from Affinity Column Chromatography

- ① High salt concentration
- ② Low pH
- ③ Chaotropic agents (NaSCN , KIO_4 , $-\text{Ial}$ etc)
- ④ Antigen or Antigen-related compounds.

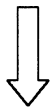
☒ 2 Purification Procedure of Anti-Glycolipid Antibody





検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



糖脂質抗体をアフィニティークロマトグラフィーにより精製し、特異性の極めて高い抗体を得ることを試みた。この抗体を使うことによって、蓄積症における蓄積した糖脂質の細胞レベルでの局在を知ることができ、診断的あるいは蓄積物質の病態代謝の解明にその利用価値が高いと考える。現在糖脂質蓄積物質として galactocerebroside(GLD), glucocerebroside(Gaucher)そして Eorssman 糖脂質については、すでに精度の高い抗体が得られたのでこれを中心に精製法を述べる。