【目的】我々は、ヒト化マスト細胞株 RS-ATL8 細胞のルシフェラーゼ発現を指標とする アレルギー試験法「IgE Crosslinking-induced Luciferase Expression(EXiLE)法」および 固相化抗原を用いたその変法である「固相 EXiLE 法」を開発し、その有用性を本学会等 で発表してきた。前回までの結果により、2種のマウス抗オボアルブミン(OVA)IgE モノク ローナル抗体の液相および固相 OVA への反応性の違いから、両者に OVA とのアフィニ ティーの違いがある可能性が示唆されていた。今回、両抗体の OVA との結合性を直接 測定することにより、両抗体の抗原認識様式を詳細に解析することを目的とした。 【方法】IgE 抗体は Chondrex 社の抗 OVA マウスモノクローナル IgE 抗体のうち、マスト 細胞の脱顆粒を誘導できるとされる E-C1 と、誘導できない E-G5 を購入した。 ヒト化マスト 細胞株 RS-ATL8 細胞をこれらの抗体で一晩感作し、液相および固相 OVA への反応性 を調べた。抗体とOVA の結合性の測定には Biacore T200 を用いた。また、非還元下で OVA の SDS-PAGE を行ない、両抗体による Western blotting を行なった。 【結果および考察】EXILE 法において E-C1 は溶液中の抗原にも応答したが、E-G5 は 抗原を固相化して初めて顕著な応答を示した。このことから、E-G5はOVAとのアフィニテ

架橋誘導活性の異なるモノクローナル IgE の抗原認識様式の違いについて 岡本(内田) 好海', ○中村 亮介', 相馬 愛実!², 石井 明子', 最上 知子', 川崎 ナナ'.

川上 浩², 手島 玲子¹, 斎藤 嘉朗¹(¹国立衛研, ²共立女大)

メーショナルエピトープを認識している可能性が考えられた。

26PB-am185

大差がなかった。OVA の一部は溶液中で二量体を形成していることが知られているため、 非還元下でSDS-PAGEを行ない Western blotting をしたところ、E-C1 は加熱により変性さ せた場合を含むすべての OVA に結合性を示したが、E-G5 は単量体の OVA には結合 せず、二量体のもののみに結合していた。これらの結果から、E-C1 抗体は OVA のリニア

エピトープを認識しているが、E-G5 抗体は OVA が二量体を形成した際に生ずるコンフォ

ィーが低いことが予想されたが、実際には E-C1 および E-G5 の OVA との解離定数には