

28F-pm04

ELISA による霊芝トリテルペノイド ganoderic acid A の迅速かつ好感度定量法の確立

○河野 俊享¹, 清水 邦義², 坂元 政一¹, 田中 宏幸¹, 森元 聡¹ (¹九大院薬, ²九大院農)

【目的】 霊芝 (*Ganoderma lingzhi*) は古くから生薬として用いられるキノコであり、本生薬に含まれるトリテルペノイド ganoderic acid A (GAA) はがん細胞の増殖・浸潤・転移阻害活性を有する¹⁾。これまで GAA 定量法として高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が用いられてきたが、HPLC は前処理を要し、操作が煩雑な上に分析に膨大な時間が必要である。そこで、本研究は、抗 GAA モノクローナル抗体 (MAb) を作製し、簡便かつ短時間で更に同時分析可能な酵素標識免疫吸着測定法 (ELISA) を確立することを目的とする。

【方法と結果】 抗 GAA MAb の作製は、ミエローマ細胞 (SP2/0) とマウス脾細胞を融合することによるハイブリドーマ法により行った。また、免疫感作は GAA-bovine serum albumin コンジュゲートを 2 週間おきに BALB/c マウスに免疫することにより行った。追加免疫により十分な抗体価の上昇を確認後、細胞融合、スクリーニング、クローニングを行い、抗 GAAMAb 産生ハイブリドーマ株を樹立した。次いで、無血清培地で培養し、培養上清から Protein G アフィニティーカラムを用いて抗 GAA MAb を得た。31 種類の霊芝トリテルペノイド類を用いて得られた MAb の交差反応性を調べた結果、本抗体は GAA に対して極めて高い特異性を示した。また本抗体を競合的 ELISA の一次抗体として用いることで、高感度に (3.05 - 195 ng/ml) GAA を定量することが可能であることが判明した。

1) Jiang, J., et al., *Int J Mol Med.*, 21, 577-584 (2008).