

21N-pm05S

レタスで作製した志賀毒素特異的 IgA 植物抗体の抗原結合性と毒素中和活性の評価

○井田 涼太¹, 松田 弥奈美¹, 中西 勝宏¹, 黒羽子 孝太¹, 丹羽 康夫², 小林 裕和², 今井 康之¹ (¹静岡県大薬, ²静岡県大院食品)

【目的】分泌型 IgA (Secretory IgA) は二量体 IgA に分泌片 (Secretory Component; SC) が結合した構造をもつ。当研究室では、可食性植物を媒体として経口摂取により粘膜での受動免疫を実現できる分泌型 IgA 抗体医薬の創製を目指している。これまでに、食中毒の原因となる腸管出血性大腸菌 O157:H7 が産生する毒素である Shiga toxin 1 (Stx1) の細胞毒性を中和できる組換え型 IgA の実験植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) での発現に成功している。本研究ではレタス (*Lactuca sativa*) で作製した分泌型 IgA の機能解析を行なった。

【方法】アグロバクテリウム法により作製した Stx1 特異的分泌型 IgA 発現レタスの葉から抽出した植物抗体について、固相化した Stx1 の B サブユニット (Stx1B) を用いた ELISA により抗原への結合性を評価した。更に、発現した植物抗体の Stx1 の毒素中和活性を、Stx1 に感受性の Vero 細胞を用いて *in vitro* で検討した。植物抗体で前処理した Stx1 を Vero 細胞に添加して 48 時間培養後、生細胞をクリスタルバイオレットにて染色し、比色法により細胞生存率を算出した。

【結果・考察】ELISA にて、固相化した Stx1B と結合した植物抗体を抗 H 鎖抗体又は抗 SC 抗体で検出した結果、いずれの場合も添加した植物抗体の濃度依存的に吸光度の上昇が見られ、発現した分泌型 IgA 植物抗体が抗原結合性を有することを確認した。更に細胞毒性試験では、1 pg/ml の Stx1 処理により Vero 細胞の生存率が 54%まで減少する一方、Stx1 を植物抗体で前処理した群では IgA の濃度依存的に生存率が回復し、IgA 濃度 0.3 µg/ml の処理にて生存率が Stx1 未処理と同等 (100%) まで回復した。以上より、可食性植物であるレタスで発現した植物抗体が、抗原である Stx1 への結合性および毒素中和活性を保持していることが示された。