

食品や家畜由来株投を用いた抗体の反応性・特異性の評価と認識抗原の同定

研究分担者 畑中 律敏 大阪公立大学・助教

研究要旨

<目的> これまでに研究代表者が作製してきた抗体をスクリーニングし *C. jejuni* のみまたは *C. jejuni* および *C. coli* に反応する抗体を見出してきた。本研究ではこれらの抗体と生菌との反応性について、菌体の培養条件・培養時間において変化するか検証を行うことを目的とした。

<方法> *C. jejuni* または *C. coli* に特異的に反応する抗体と、*C. jejuni* 5 菌株を用いた。各菌株を血液存在下・非存在下において 24, 48, 72 時間培養後の菌体を回収し、各抗体と反応させ反応性をフローサイトメーターを用い確認した。

<結果> 各抗体と供試菌株はどの培養条件で培養した菌体でも反応性が確認できた。全体的に血液非存在下では、血液存在下と比較し反応性が強い傾向にあった。また、培養時間については菌株によって反応性が異なっていた。

<まとめ> 本研究では、*C. jejuni*, *C. coli* の生菌に特異的に反応する抗体を複数構築することができた。これらの抗体を今後イムノクロマトへと応用していくことで、臨床現場において *Campylobacter* 感染症の迅速診断が可能になることが期待される。さらに、各抗体の標的が常時同程度発現しているわけではないことが明らかとなったことより、これらの構築した抗体を迅速診断法の構築のみでなく、今後標的の発現条件を見出していくことで、*Campylobacter* 属菌が患者の体内や環境中でどのような発育状態で分布しているのかを明らかとするためのツールとしての役割も期待できると考えられる。

A. 研究目的

我が国において発生している細菌性食中毒の多くは *Campylobacter jejuni* または *C. coli* によるものである。*Campylobacter* 属菌による食中毒は我が国のみならず、世界中で問題となっている。

しかしながら本菌属は微好気性細菌であり、検出・培養に時間がかかるため、食品の安全確保には、迅速かつ簡便かつ高感度の検出方法の構築が重要となる。そのため、*Campylobacter* 属菌の中で我が国において食中毒細菌に指定されている *C. jejuni*, *C. coli* を迅速かつ簡便に検出するイムノクロマトグラフィの構築を目標に、これまでに研究代表者が作製してきた抗体をスクリーニングし *C. jejuni* のみまたは *C. jejuni* および *C. coli* に反応する抗体を見出してきた。本研究では、菌体の培養条件・培養時間において抗体との反応性が変化するか検証を行うことを目的とした。

B. 研究方法

1. *C. jejuni* 5 菌株を 5% 馬血液加寒天培地、または血液を含まない同寒天培地にて 24, 48 または 72 h 培養後菌体を回収
2. 菌体を 4 種類の抗体 (*C. jejuni* 特異抗体: 3 種類、*C. jejuni*, *C. coli* 特異抗体: 1 種類) とそれぞれ反応させた後、蛍光標識した 2 次抗体と反応させた
3. FCM にて各抗体との反応性を蛍光強度の強弱でサンプルを解析した
(倫理面への配慮)

該当しない

C. 研究結果

24, 48, 72 時間培養したいずれの菌株も培養した培地の違いに関わらず、4 種類の抗体に供試した 5 菌株は全て反応した。

ほとんどの菌株において、血液がない状態で培養した場合の菌体の方が各抗体との反応性が高い傾向にあった。

培養時間と抗体との反応性については菌株ごとに異なっており、培養時間が短いほど反応性が高い菌株もあれば、培養時間が長いほど反応性が高くなる菌株も存在しており、反応性の違いは菌株ごとに異なっていた。

D. 考察

選定した 4 種類の抗体は全て、様々な培養条件で培養した菌株と反応した。培養条件によって反応性の強弱は確認されたが、一定の割合で抗体と反応する菌体が存在していたことから、様々な状況下の *Campylobacter jejuni* を検出することができる抗体であることが示唆される。

培養条件により、抗体との反応性は異なっており、かつ反応性の違いは菌株により様々であった。今回の実験系では菌体表面上に反応加のである状態の標的のみを検出し評価しているため、発現していない菌体も存在するため反応性に違いが出ているのか、菌体表面に発現しているのではなく菌体内部等に今回の実験系で評価できない状態で発現してい

るのかを今後検討していく必要があると考えられた。

E. 結論

本研究で構築した4種類の抗体は様々な状態の*C. jejuni*の生菌と反応することが確認されたことより、これらの抗体は患者や食品からの*C. jejuni*を検出するためのイムノクロマトグラフィーへの応用が大いに期待できる抗体であることが明らかとなった。さらに、各抗体の標的が常時同程度発現しているわけではないことが明らかとなったことより、これらの構築した抗体を迅速診断法の構築のみでなく、今後標的の発現条件を見出していくことで、*Campylobacter*属菌が患者の体内や環境中でどのような発育状態で分布しているのかを明らかとするためのツールとしての役割も期待できると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし