

ヒトパレコウイルス 3 型カプシドタンパク質 VP0 に対するモノクローナル抗体の作製と応用

○後藤慶子¹⁾、永田紀子¹⁾、柳岡利一¹⁾、梁 明秀²⁾

1) 茨城県衛研、2) 横浜市立大学

I. はじめに

ヒトパレコウイルス (HPeV) は、小児において軽度の胃腸炎や呼吸器感染症を引き起こすウイルスである。その中でも、ヒトパレコウイルス 3 型 (HPeV3) は他の遺伝子型と異なり、新生児や乳幼児において敗血症様症状や髄膜炎等の重篤な症状を示すことから、3 ヶ月未満の乳児においては注意すべき重要な疾病のひとつである。しかし、HPeV3 はウイルス学的に不明な点が多く、治療法や早期診断法が確立していない現状にあるため、HPeV3 に対して高い特異性を示すモノクローナル抗体を開発することは重要である。そこで、今回は、HPeV3 のカプシドタンパク質である VP0 に対するモノクローナル抗体を作製し、性状解析並びに HPeV3 特異的な検出法への応用を検討した。

II. 材料と方法

HPeV3 のカプシドタンパク質をコードする VP0 の人工遺伝子を合成し、コムギ無細胞タンパク質合成系によりタンパク質を作製した。作製した HPeV3 のタンパク質を BALB/c マウスに免疫し、B 細胞を回収後、ミエローマ細胞と融合させ、48 種類のハイブリドーマを作製した。作製したハイブリドーマが産生したモノクローナル抗体を ELISA 法および AlphaScreen 法を用いてスクリーニングを実施した。モノクローナル抗体の特異性を検証するため、HPeV1 から HPeV6 の VP0 合成タンパク質および他の類縁ウイルスを用い、交差反応性を確認した。また、HPeV3-VP0 の一部を欠損させたタンパク質を作製し、Western Blot 法により抗体のエピトープ解析を実施した。更に、最適な抗体の組み合わせを選別し、サンドイッチ ELISA 法を構築し、HPeV3 分離株の検出並びに類縁ウイルスの分離株を用い、検出を試みた。最後に、他の検出法への応用として、免疫蛍光抗体法及び免疫沈降法への適応を確認した。

III. 結果及び考察

スクリーニングの結果、HPeV3-VP0 に特異的に反応した抗体が 6 クローン、HPeV1 から HPeV6 の VP0 を認識する抗体が 3 クローン得られた。エピトープ解析の結果、異なる 3 つの領域を認識する抗体が得られ、いずれも他の類縁ウイルスと交差反応を示さなかった。構築したサンドイッチ ELISA 法は HPeV3 分離株を特異的に検出し、一部のモノクローナル抗体は免疫蛍光抗体法および免疫沈降法へ適応可能であった。