

演題番号：

組み換えイヌアレルギー Can f1、Can f2 およびその抗体作成とこれを用いたイヌアレルギー診断法の検討

宮野前亜希¹⁾、星 英之¹⁾、鎌田洋一¹⁾、宮野前 健²⁾

¹⁾大阪府大・獣医公衆衛生、²⁾国立病院機構・京都南病院

1. **はじめに**：近年、イヌを室内で飼育する家庭が増加、また身体障害者補助犬法の整備などから、年々イヌとヒトとが直接接触する機会が増えつつあり、イヌアレルギーは今後大きな問題となってくることが予想される。本研究ではこれらのイヌアレルギー組み換え体と、それに対する抗体を作成、唾液中の f1、f2 量を測定、またイヌアレルギー診断用犬毛抽出液中のアレルギーについて調べた。2. **材料および方法**：ビーグル犬の耳下腺から cDNA を合成、f1 および f2 の塩基配列から設計したプライマーを用いた PCR により増幅、発現用ベクターにクローニングした後、塩基配列を確認、大腸菌発現系を用いて組み換えタンパク rf1、rf2 を発現させ、これらを精製した。この組み換え体でウサギを免疫し、ポリクローナル抗体を作成した。得られた抗体と組み換え体、イヌの唾液および唾液腺抽出物、ヒトのアレルギー診断用犬毛抽出物（鳥居薬品）との反応を ELISA とウエスタンブロットで確認した。得られた抗体の一部をビオチン標識し、未標識抗体を固相化抗体、ビオチン標識抗体を二次抗体として組み換え体と反応させる Sandwich ELISA およびドットブロットを試みた。3. **成績**：クローニングした f1、f2 の推定アミノ酸配列は、Konieczny の報告と f1 で 2 アミノ酸残基が異なったが、f2 では一致したものが得られた。SDS 電気泳動では、rf1 は約 18 kDa、rf2 は約 20 kDa の分子量を示した。ウエスタンブロットにおいて抗 f1 抗体は唾液、犬毛抽出物中の約 18、22 kDa の 2 本のバンドと、また抗 f2 抗体は唾液、耳下腺、犬毛抽出物中の約 20、23 kDa の 2 本のバンドと反応した。Sandwich ELISA において、ウサギ抗体は rf1、rf2 と濃度依存的に反応、それぞれ最小検出量 1 ng/ml までを測り取ることができた。4. **結論**：f1、rf2 に対する抗体は、犬毛抽出液、唾液、耳下腺中の f1、f2 を検出した。これらの抗体を用いて唾液中のアレルギーを測定することが可能となった。今後はイヌアレルギー患者の血清を用いて実験を行い、rf1、rf2 による新たな診断法の構築を検討したい。