

옥신(IAA)에 대한 단클론성 항체 생산\*

전남대학교 농수축산대학

Production of Monoclonal Antibodies to Indole-3-acetic acid

Chonnam Nat'l Univ. T. E. Whang, H. O. Lim

실험목적 : 식물체에 극미량으로 존재하면서 생리적으로 큰 영향을 미치는 IAA를 정량분석하기 위하여 IAA에 대하여 특이성 높은 단클론성 항체를 생산하고 이 항체를 이용하여 IAA면역측정법을 개발하기 위하여 본 연구를 수행하였다

재료 및 방법 : IAA를 bovine serum albumine에 coupling시켜 조제한 항원을 Balb/C mouse에 면역시켜 얻은 spleen cell과 myeloma cell (SP2/0-Ag-14)을 polyethylene glycol을 사용하여 융합시켰다 융합된 hybridoma는 세포배양기법에 따라서 선택배지에서 배양하면서 positive clone을 선발하고 증식하여 일부는 액체질소에 저장하거나 mouse의 복강에 접종, 복수암을 유발시켜 교역가항체 생산을 유도하였다.

결과 및 고찰 : 96 well plate에 hybridoma를 배양하였던바 50well에서 colony정성이 관찰되었으며 이중 12 colony가 IAA와 결합반응을 보였으며 9 colony가 나중에 반응을 상실했고 3 colony가 stable line으로 선발되었다. 이 3 line중 2 line에서만 ascites fluid가 생산되었으며 RIA에 의해서 검사하였던바 각각 1:300000 그리고 1:325000배 희석에서 50% 결합 반응을 보였다. 또 immunodiffusion 결과 IgG<sub>1</sub> type의 항체가 분비되고 있었다.

또한 IAA유사물질들과 교차반응을 실시하였던바 표 1과 같이 항원으로 사용한 IAA에만 높은 특이성이 나타났다.

본 항체를 사용한 ELISA에 의해 standard curve를 작성하였던바 그림 1에 표시한바와 같이 측정한계는 1 f mol 그리고 측정범위는 500 f mol 까지로서 IAA의 초정밀 정량분석이 가능하였다.

\*: 본 연구는 한국과학재단 연구비 지원에 의하여 수행되었음

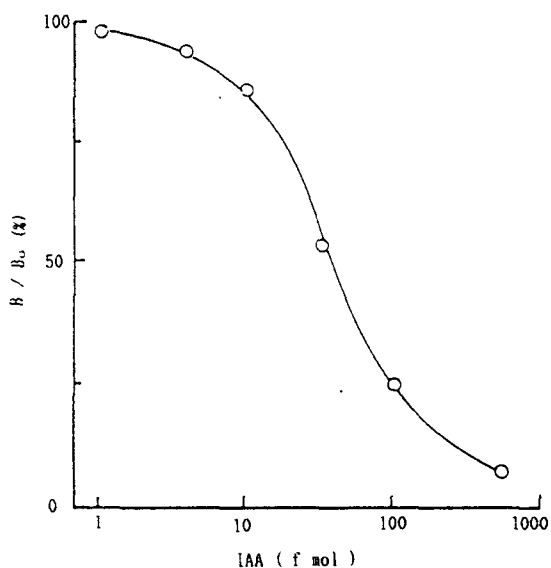


Fig.1. Standard curve for IAA ELISA .  
 B. Binding of tracer to antibody in the presence (B<sub>0</sub> in the absence) of standard IAA.

Table 1. Cross reactivity of monoclonal antibodies against indole-3-acetic acid and its analogue.

compound	cross reactivity
indole-3-acetic acid	100 (%)
indole-3-acetaldehyde	0.1
indole-3-acetamide	0
indole-3-acetic acid ethyl ester	0
indoleacetone	0.01
indole-3-aldehyde	0
indole-3-butyric acid	0
indole-3-carbinol	0
indole-2-carboxylic acid	0
dl-indole-3-lactic acid	0
indole-3-propionic acid	0
indole-3-pyruvic acid	0
alfa-naphthaleneacetic acid	0.1
beta-naphthaleneacetic acid	0.2
2,4-dichlorophenoxyacetic acid	0
tryptamine	0
l-tryptophan	0
d-tryptophan	0
tryptophol	0