

Determination of Antigenic Determinant(Epitope) of Lactoferrin-B Recognized by Monoclonal Antibody

남명수^{*}, 김종우², 이수원³, 이경광¹, 시마자키게이치⁴

¹KIST 생명공학연구소 생물자원연구그룹, ²충남대학교 농과대학,

³성균관대학교 생명자원과학대학, ⁴일본 북해도대학 농학부

동물의 유즙에 존재하는 lactoferrin(LF)은 분자량 약82DK의 철결합성 당단백질로 LF 한 분자당 2개의 철결합 부위와 2개의 Bicarbonate ion의 결합부위를 갖고 있다. LF는 인체에 유해한 Gram-negative 미생물에 대한 항균작용이 있는 것으로 밝혀졌다. 또한 T lymphocyte and Monocyte Activate, Polymorphonuclear Leukocytes Activate, Regulation of Inflammatory, Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity(ADCC) Activity and Natural Killer Cell Activity등 여러 가지 기능이 있는 것으로 보고되었다. Bovine LF의 17-41번 Fragment를 Lactoferricin B(LFcin B)라고 부른다. LFcin B는 Lactoferrin에 비해 약 100-300배 정도의 항균작용이 높은 것으로 보고되었다. 이러한 항균작용이 월등히 높은 LFcin B의 항원 결정기(Epitope)을 Mapping하기 위해서 LFcin Monoclonal Antibody를 분비하는 2개의 Clone으로 본 실험을 수행하였다. CNBr로 LFcin B의 Met.부분을 절단시켜서 각각의 Fragment를 HPLC로 분리하여 LFcin Monoclonal Antibody로 반응시켜 결과를 확인하였고 Simple Precise Original Test System(Epitope Mapping Kit)를 사용하여 LFcin을 합성하고 LFcin Monoclonal Antibody와 반응시켜 양성반응을 나타내는 부분의 공통아미노산이 Epitope이라는 것을 확인하였다. 확인된 Epitope을 확실히 증명하기 위해서 Epitope부분을 Chemical Modification하여 ELISA Test로 확인하였다. 이 결과 LFcin의 Epitope은 Q(Glutamin), W(Tryptophan), R(Argine) 3개의 아미노산으로 확인되었다.