

Anti-gliadin polyclonal antibody의 생성 및 특성규명

서 용원, 홍 병희, 장 석주*

고려대학교

Production and Characterization of Anti-gliadin Polyclonal Antibody

Y.W. Seo, B.H. Hong and S.J. Chang*

Korea University

1. 실험목적

제분과 제빵 및 제면 품질에 영향을 미치는 gliadin fraction에 specific한 polyclonal antibody를 이용하여 효과적인 밀 품질 육종 선발 기준과 70% ETOH extractable protein의 structural relationship을 통하여 작물간 유연관계 규명의 기초자료로 이용하고자 함.

2. 재료 및 방법

공시재료: 10개의 밀, 호밀, 보리 및 트리티케일 품종 및 계통

3. 실험 방법

Antibody production: 70% ethanol로 추출한 gliadin을 토끼에 injection하여 gliadin에 specific한 polyclonal antibody를 생산하였으며, antibody에 대한 titer test를 수행하였다.

Immunoblot 및 SDS-PAGE: 12% SDS-PAGE를 이용하여 silverstaining 한 seed storage protein fraction들과 이에 대한 Immunoblot간의 비교를 하였다.

4. 결과 및 고찰

1. 본 실험에서 생성된 polyclonal antibody는 gliadin fraction들에 specific하게 반응하였고, ELISA를 이용한 titer test를 통하여 anti-gliadin polyclonal antibody는 antigen의 증가에 따른 반응의 증가를 보임으로서 antibody를 이용한 gliadin의 정량분석을 가능하게 하였다.

2. 본 실험에서 얻어진 anti-gliadin polyclonal antibody는 unreduced gliadin fraction들에 specific한 반응을 보였지만, glutenin 및 reduced gliadin과는 반응을 보이지 않았다.

3. 본 실험에서 생성된 anti-gliadin polyclonal antibody는 보리의 Hordein과는 반응을 보이지 않았지만 호밀과 트리티케일의 unreduced alcohol soluble protein과 반응을 나타내어 이들간에 structural relationship이 상당히 높을 것으로 보인다.

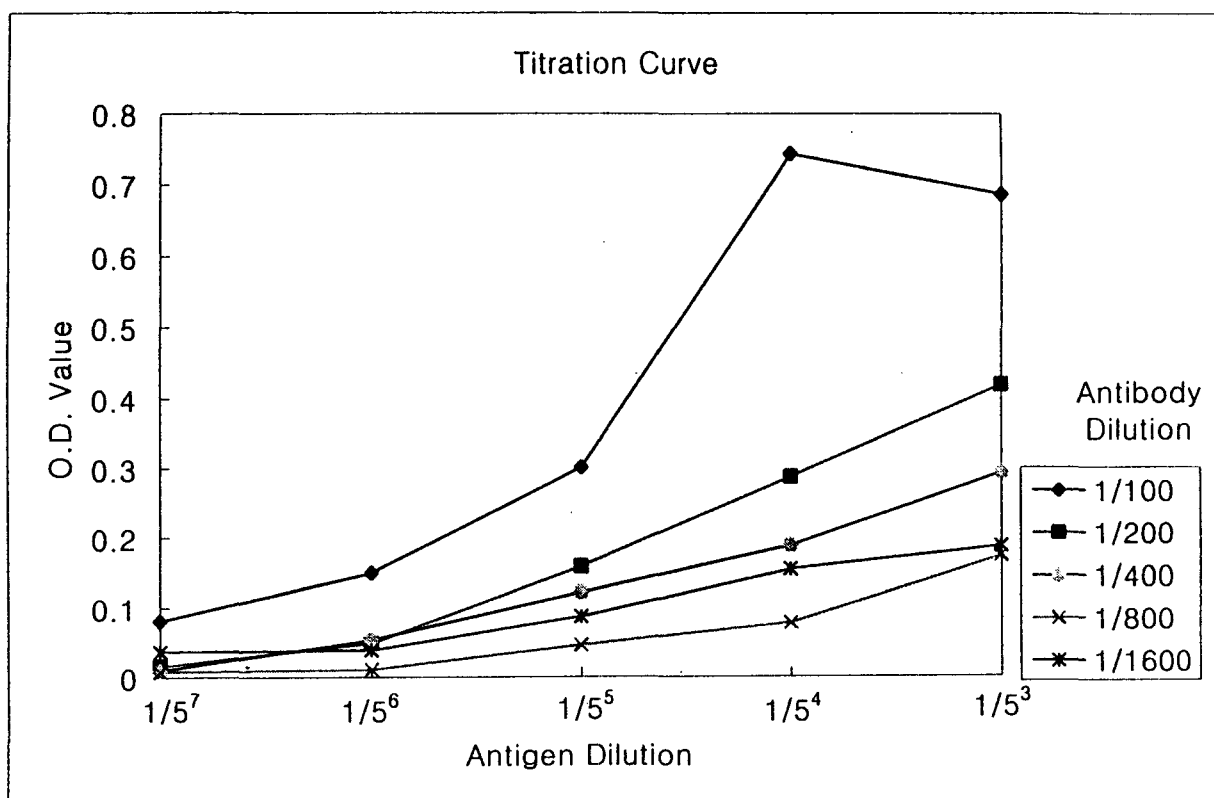


Fig. Binding of anti-gliadin polyclonal antibody to 70% ETOH extractable protein.

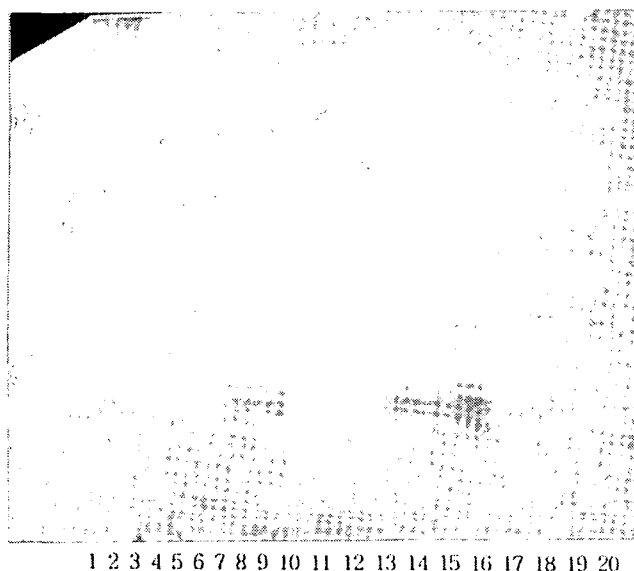
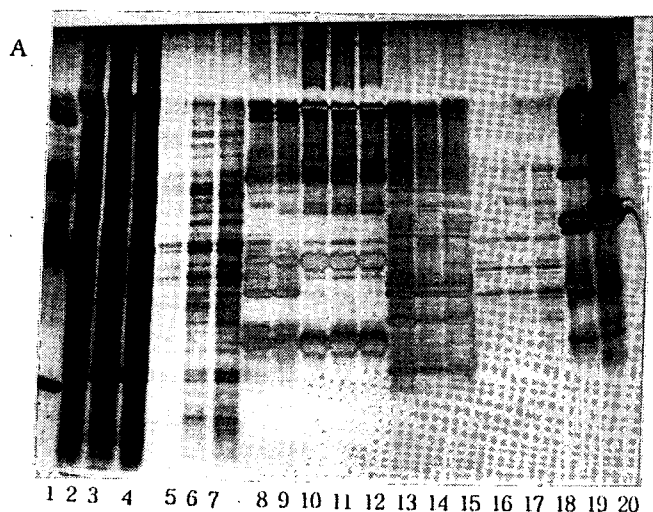


Fig. 1.A. SDS-PAGE of seed storage proteins in different crop species. Lane 1: molecular size marker; lane 2-4: unreduced glutenins for Alchanmil, Urimil, Tapdongmil, respectively; lane 5-7: reduced glutenins for Alchanmil, Urimil, Tapdongmil, respectively; lane 8-9: unreduced tritcale prolamins for Suwon18 and Suwon 24; lane 10-12: unreduced rye prolamins for Geurhomi, Hnomil21, Hnomil23, respectively; lane 13-15: unreduced gliadins for Alchanmil, Urimil, Tapdongmil, respectively; lane 16-18: reduced gliadins for Alchanmil, Urimil, Tapdongmil, respectively; lane 19-20: unreduced hordeins for Gangbori and Ginsalbori.

B. Immunoblot of seed storage proteins in different crop species. Lane numbers and sources are same as shown in A.