

스쿠치카에 대한 단클론항체의 생물학적 특성

°정성주 · 오명주

여수대학교 수산생명의학과

서론

스쿠치카는 넙치에 기생하는 섬모충으로 스쿠치카에 대한 숙주의 면역반응은 거의 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 숙주의 스쿠치카에 대한 방어 메커니즘을 알기 위하여 스쿠치카에 대한 단클론항체를 만들어 스쿠치카에 대한 항체의 생물학적 특성을 보았다.

재료 및 방법

스쿠치카는 FHM세포에서 배양한 것을 초음파처리하여 2.0×10^4 cell의 농도로 BALB/c 마우스의 복강에 3주일 간격으로 3번 접종하였다. Hybridoma는 Oi & Herzenberg (1980) 의 방법으로, 면역된 마우스의 비장세포와 Sp2/0-Ag14세포를 PEG로 융합시킨 후 HAT배지에서 선택배양하였다. 배양상층은 ELISA법으로 screening하였으며 양성 well의 hybridoma는 한계희석법으로 5회 cloning하였다. Western blotting을 위하여 초음파처리한 충체를 SDS-PAGE후 nitrocellulose막으로 전사하여 hybridoma배양액과 반응시킨후 API30 kit (Oxford)를 사용하여 발색시켰다. 생성된 항체의 Isotype은 Isotyping kit (Gibco)를 사용하여 확인하였다. 단클론 항체의 스쿠치카 충체에 대한 생물학적 반응을 보기 위하여 96well 의 각 well에 5×10^3 cell을 넣은 후 hybridoma배양액과 반응시키면서 관찰하였다.

결과 및 요약

ELISA의 결과 SA11, SA12, SA36, SA61, SA71, SA81의 6개의 양성 hybridoma가 얻어졌다. 이들 중 SA12는 90kDa의 polypeptide를 나머지 clon은 스쿠치카에서 가장 풍부하게 존재하는 30kDa의 polypeptide를 인식하였다. 단클론항체의 immunoglobulin의 class는 SA11는 IgM, SA12는 IgG2b, SA36은 IgG3, SA61, SA71,

SA81은 IgG1이었고 모두 kappa light chain을 가지고 있었다. 살아있는 스쿠치카를 이들 단클론 항체와 반응시켰더니, SA61과 SA71에서는 강한 응집반응을 보여 큰 응집괴를 형성하면서 총체는 사멸하였다. 응집괴의 주위에는 파괴된 총체의 잔사와 함께 세포막과 섬모열만이 투명하게 관찰되는 사멸한 총체가 다수 존재하였다. SA12에서 총체는 약간의 응집반응과 함께 움직임이 둔화되고 세포막의 손상을 보이며 사멸하였다. SA36에서는 응집은 일어나지 않고 세포막에 손상이 보이면서 사멸하였다. SA11과 반응시킨 총체는 움직임이 활발하였으며 변화가 보이지 않았다. 이상의 결과로부터, 스쿠치카에 다량으로 존재하는 30kDa의 polypeptide가 항원으로 작용하여 숙주에 면역반응을 일으키며, 총체의 응집, 운동성둔화와 세포막의 파괴를 유발하는 것을 알 수 있었다. 앞으로 30kDa항원의 구성성분, 총체에서의 존재부위 및 *in vivo*에서의 단클론항체의 효과에 대한 연구를 계획하고 있다.

참고문헌

Oi V. T. & Herzenberg L. A. (1980) Immunoglobulin-producing hybrid cell lines. In : Selected Methods in cellular Immunology (ed. by B. B. Mishner & S. M. Shiigi), pp.351-372.