

ニジマス鰓上皮抗原取込細胞に対するモノクローナル抗体の作出

著者	碓 由紀, 市田 健介, 山口 卓哉, Uwe Fischer, 佐野 元彦, 加藤 豪司
雑誌名	日本魚病学会大会プログラムおよび講演要旨
発行年	2017-03-11
科学研究費研究課題	魚類鰓抗原取り込み細胞の細胞生理学的研究：魚類独自の抗原捕捉システムの解明
研究課題番号	16H06201
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001626/



ニジマス鰓上皮抗原取込細胞に対するモノクローナル抗体の作出

○碓 由紀・市田健介（海洋大）・山口卓哉・Uwe Fischer（FLI）・佐野元彦
・加藤豪司（海洋大）

【目的】ニジマスの鰓上皮には、浸漬投与したワクチン抗原を取り込む鰓上皮抗原取込（Gill epithelium antigen sampling（GAS））細胞が存在する。これまで、GAS 細胞はレクチンの一種 *Ulex europaeus agglutinin 1*（UEA1）に親和性を有すること、*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*（*A.s.s.*）の不活化菌体を取り込むことの二点を利用し識別してきた。そこで本研究では、より簡便に GAS 細胞を識別するために、モノクローナル抗体（MAb）を作出し、それを使用して GAS 細胞の形態学的な特徴を解析した。

【方法】ニジマスの鰓上皮から分離した UEA1 陽性細胞（約 1.0×10^6 個）を PFA で固定し、マウスに免疫した。常法によりハイブリドーマを作製し、UEA1 および Syto61 で染色した *A.s.s.* 不活化菌体で標識した GAS 細胞を用いてスクリーニングを行った。また、鰓の凍結切片およびパラフィン切片を作製し、これら MAb を用いた蛍光免疫染色を行った。さらに、MAb を利用して GAS 細胞を分取し、得られた細胞を May-Grünwald Giemsa 染色して観察した。

【結果】ハイブリドーマのスクリーニングの結果、UEA1⁺*A.s.s.*⁺ の GAS 細胞に特異的に反応する MAb（2B4-1）を得た。2B4-1 は、アセトンおよび PFA で固定した凍結切片だけでなく、パラフィン切片にも感度良く反応した。2B4-1 で染色された GAS 細胞は、一次鰓弁と二次鰓弁の上皮組織、およびそれらの基部に多く観察された。2B4-1 を用いて分画された GAS 細胞は、細胞質内に顆粒を多く含んでいた。このように、MAb 2B4-1 を使用することで、GAS 細胞の形態に関する詳細な解析が可能となった。