

(19)日本国特許庁 ( J P )

# (12) 公開特許公報 ( A )

(11)特許出願公開番号

特開2002 - 69100

( P2002 - 69100A )

(43)公開日 平成14年3月8日 (2002.3.8)

(51) Int. Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード ( 参考 )
C 0 7 K 16/16		C 0 7 K 16/16	4 B 0 2 4
C 1 2 N 5/10		C 1 2 P 21/08	4 B 0 6 4
15/02		G 0 1 N 33/53	S 4 B 0 6 5
C 1 2 P 21/08		33/577	B 4 H 0 4 5
G 0 1 N 33/53		C 1 2 N 5/00	B

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L ( 全 7 数 ) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000 - 258337(P2000 - 258337)

(22)出願日 平成12年8月29日(2000.8.29)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成12年3月5日 日本薬学会第120年会組織委員会発行の「日本薬学会第120年会要旨集」に発表

(71)出願人 800000035

株式会社産学連携機構九州

福岡県福岡市東区箱崎6丁目10番1号

(72)発明者 正山 征洋

福岡県福岡市東区馬出3 - 1 - 1 九州大学薬学部内

(72)発明者 田中 宏幸

福岡県福岡市東区馬出3 - 1 - 1 九州大学薬学部内

(74)代理人 100087675

弁理士 筒井 知

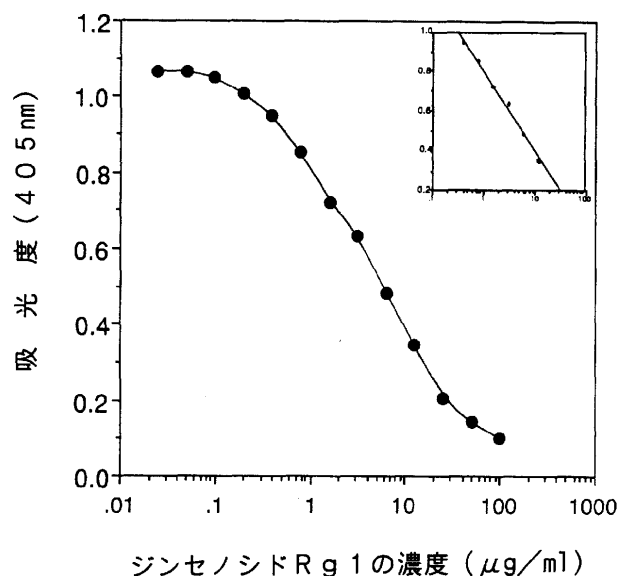
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗ジンセノシド R g 1 モノクローナル抗体

(57)【要約】

【課題】 薬用人参に含有される主要な配糖体であるジンセノシド R g 1 ( G R g 1 ) の簡便な分析手段を提供する。

【解決手段】 I g G 2 b のサブクラスに属し 軽鎖を保有し G R g 1 に対して特異的に反応するモノクローナル抗体。過ヨウ素酸ナトリウムで処理された G R g 1 にウシまたはヒトの血清アルブミンを反応させた G R g 1 - 血清アルブミン複合体で免疫された動物 ( 好ましくはマウス ) の抗体産生細胞と骨髄腫細胞とを融合させて得られたハイブリドーマを選択培養し、 G R g 1 に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングおよびクローニングすることによって作製される。このモノクローナル抗体を E L I S A 法等の免疫測定法に適用することにより G R g 1 を簡便且つ高感度に定量することができる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ジンセノシドRg1に対するモノクローナル抗体。

【請求項2】 IgG2bのサブクラスに属し、軽鎖を保有することを特徴とする請求項1のジンセノシドRg1に対するモノクローナル抗体。

【請求項3】 請求項1または請求項2のジンセノシドRg1に対するモノクローナル抗体を作製する方法であって、過ヨウ素酸ナトリウムで処理されたジンセノシドRg1にウシまたはヒトの血清アルブミンを反応させたジンセノシドRg1-血清アルブミン複合体で免疫された動物の抗体産生細胞と骨髓腫細胞とを融合させて得られたハイブリドーマを選択培養し、ジンセノシドRg1に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングおよびクローニングする工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項4】 抗体産生細胞としてマウスのひ細胞、骨髓腫細胞としてマウスの骨髓腫細胞を用いることを特徴とする請求項3のモノクローナル抗体の作製方法。

【請求項5】 請求項1または請求項2のジンセノシドRg1に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、モノクローナル抗体の技術分野に属し、特に、薬用人参に含有される主要な配糖体であるジンセノシドRg1（以下、GRg1と略称することがある）に対するモノクローナル抗体に関する。

## 【0002】

【従来の技術とその課題】薬用人参（以下、単に人参と称することがある）は和名をオタネニンジン、学名をパナックスジンセン（Panax Ginseng）と称し、ウコギ科に属する多年性植物であり、その根は古くから優れた生薬として知られている。例えば、人参は「神農本草経」において上薬に収載されている。現在、生薬として最も多用されている人参は、白参（ハクジン：White Ginseng, *Gingeng Radix*）と、それを蒸して乾燥した紅参（コウジン：Red Ginseng, *Ginseng Radix Rubra*）であり、この他に、これらに類似するものとして、西洋人参（American Ginseng：アメリカ人参）、田七人参（San-chi Ginseng：三七人参）および竹節人参（Japanese Ginseng, *Panacis Japonici Rhizoma*）および毛人参（Fibrous Ginseng）が知られている。

【0003】このように人参は、優れた薬理活性を有する重要な生薬として経験的に多用されてきたが、その薬理的品質評価は必ずしも充分に行なわれていなかった。その理由の一つは、人参の構成成分を特異的に定量することのできるアッセイ系が確立されていないことにある。例えば、人参には、薬理活性成分としてジンセノ

シドRシリーズで命名された各種の配糖体（サポニン配糖体）が微量含有されていることが知られているが、従来、これらの成分の分析には専らHPLC（高性能液体クロマトグラフィー）のような手段が用いられていた。しかしながら、従来のHPLC等による分析においては、前処理（予備的精製）が必要であったり、一検体の分析時間が長い等の欠点があった。特に、Rg1は、中枢神経興奮作用、抗疲労作用、疲労回復作用、記憶学習機能改善作用、DNAやRNA合成促進作用、プラスミン活性化作用等の薬理効果を有し、人参の薬理作用を代表している成分の一つであり、人参の品質を評価する時のマーカー化合物となっているが、Rg1の簡便で高感度の分析手段は見当らない。

【0004】一方、細胞融合技術は、ケーラーとミルスタインの報告（Nature, 495-497頁、1975年）以来急速に発展した。特定の抗原で免疫した哺乳動物のひ細胞（脾細胞）と癌細胞である骨髓腫細胞（ミエロマ細胞）を融合させた雑種細胞（ハイブリドーマ）は、用いたひ細胞による特定抗原に対する抗体産生能を有することから、これを利用して多くのタンパク質やペプチドのような高分子化合物に対して特異的な抗体、すなわちモノクローナル抗体（以下、MAbと表記することがある）を産生させ、このMAbを用いてそれらのタンパク質等のアッセイ系を構築することが試みられてきた。

【0005】しかし、人参の配糖体は低分子のため通常は抗原となりえないので、それに対するMAbは作製されておらず、僅かに本発明者らによりジンセノシドRb1に対するMAbが案出された（特開平11-290071）程度である。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】このたび本発明者は、特定の処理を施したGRg1で動物を免疫し、細胞融合によりGRg1に対するMAbを産生するハイブリドーマを得、このハイブリドーマから抗GRg1MAbを大量に生産することに成功し、本発明を導き出した。

【0007】かくして、本発明は、初めて、GRg1に対するモノクローナル抗体を提供するものである。さらに、本発明に従えば、そのようなGRg1に対するモノクローナル抗体の具体例として、IgG2bのサブクラスに属し、軽鎖を保有するモノクローナル抗体が提供される。

【0008】本発明は、さらに、上記のごとき抗GRg1モノクローナル抗体を作製する方法を提供し、本発明の方法は、過ヨウ素酸ナトリウムで処理されたGRg1にウシまたはヒトの血清アルブミンを反応させたGRg1-血清アルブミン複合体で免疫された動物の抗体産生細胞と骨髓腫細胞とを融合させて得られたハイブリドーマを選択培養し、GRg1に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングおよびクローニングする工程を含む。本発明に従う抗GRg1モノ

クローナル抗体の作製方法の好ましい態様においては、抗体産生細胞としてマウスのひ細胞、骨髓腫細胞としてマウスの骨髓腫細胞を用いる。さらに、本発明は、上記の抗GRg1モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマも提供する。

#### 【0009】

【発明の実施の形態】本発明の抗GRg1MAbは、これまでに案出された細胞融合技術とモノクローナル抗体作製法を工夫し適用することにより作製することができる。すなわち、(1)抗原としてGRg1と血清アルブミンの複合体で免疫した動物の抗体産生細胞を調製する。(2)骨髓腫細胞(ミエローマ細胞)を培養増殖し、調製する。(3)上記2種の細胞をポリエチレングリコールのような融合促進剤を媒体として融合する。(4)得られたハイブリドーマをHAT培地のような選択培地にて培養(増殖)する。(5)抗GRg1MAb産生ハイブリドーマをスクリーニング(選抜)する。(6)選抜されたハイブリドーマをクローニングする。(7)得られたハイブリドーマをインビトロまたは動物腹腔内で培養(増殖)して抗GRg1MAbを得る。以下、各工程について詳細に説明する。

#### 【0010】(1)抗体産生細胞の調製

GRg1とウシ血清アルブミン(BSA)またはヒト血清アルブミン(HSA)との複合体(抱合体:コンジュゲート)で動物を免疫する。このGRg1-BSA複合体またはGRg1-HSA複合体を得るには、まずGRg1を過ヨウ素酸ナトリウムを反応させた後、これにBSAまたはHSAを添加、反応させる。これによって、過ヨウ素酸ナトリウムの作用によって開環されたGRg1の糖部分に、BSAまたはHSAがそのアミノ基(NH<sub>2</sub>)を介して結合した複合体が得られる。図1は、このような複合体が得られる反応を模式的に示すものである。本発明においては、マルディトフ(MALDI-tof)スペクトル測定により、BSAまたはHSAの1分子当たり4~19分子のGRg1が結合されていることを確認したGRg1-BSA(またはHSA)複合体を用いる。

【0011】免疫法としてはフロイントの完全アジュバントを併用する手法がとられる。免疫される動物としてはマウス、ラット、ウサギ、モルモット、ヒツジなどが例示される。抗体産生細胞としてはひ臓、リンパ節、末梢血液等から分離した細胞が使用される。

#### 【0012】(2)骨髓腫細胞の調製

細胞融合に使用する骨髓腫細胞は特に限定されず、各種の哺乳動物の細胞株が利用可能であるが、抗体産生細胞の調製に用いた動物と同種の細胞株を使用するのが好ましい。本発明の抗GRg1MAbを作製するのに特に好ましい組み合わせはマウスのひ細胞/マウスの骨髓腫細胞である。

【0013】用いる細胞株は細胞融合の後に、未融合の

骨髓腫細胞が選択培地で生存できず、ハイブリドーマのみが増殖可能にすることによって、未融合細胞と融合細胞を選別することを考慮して、特定の薬剤抵抗性を有するものが好ましい。例えば8-アザグアニン抵抗性の細胞は、HAT培地中で生育できない性質を有するため好んで用いられる。具体的には、マウス骨髓腫細胞株、PAI、P3-X63-Ag8、P3-X63-Ag8-UI、P3-NSI/1-Ag4-1、X63-Ag8-6.5.3.、SP2/0-Ag14、FO、S194/5XOXO、BU.1、MPC11-45.6.、TG.1.7等が用いられる。

#### 【0014】(3)融合細胞

細胞融合は通常MEM培地、RMI1640培地、IMDM培地等のe-RDF培地中で、骨髓腫細胞と抗体産生細胞を融合促進剤の存在下に混合(混合比は通常1:4~1:10)することにより行なわれる。好ましい融合促進剤として平均分子量1000~6000のポリエチレングリコール(PEG)が使用できる。PEGの使用濃度は通常30~50%である。

#### 【0015】(4)ハイブリドーマの選択培養

融合を終えた細胞は、10%FCS含有e-RDF培地などで適当に希釈し、遠心分離する。沈査を選択培地(例えばHAT培地)で浮遊し、96穴ウエルマイクロプレートに接種した後に、5%炭酸ガス培養装置で培養する。選択培地で生育してくる細胞がハイブリドーマである。

#### 【0016】(5)抗体産生ハイブリドーマのスクリーニング

抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングは常法に従えばよく、特に限定されない。例えばハイブリドーマの増殖した培養液を採取し、GRg1-BSA(またはHSA)と反応させ、酵素、蛍光物質、発光物質などでラベルした2次抗体と反応させるELISA法により目的の抗GRg1抗体産生能を有するハイブリドーマを選抜する。

#### 【0017】(6)ハイブリドーマのクローニング

抗体産生ハイブリドーマを含むことを確認した培養ウエル中の細胞を限界希釈法などによりクローニングを行ない、抗GRg1MAb産生ハイブリドーマを得る。

#### 【0018】(7)抗GRg1MAbの調製

上記のようにして得られたハイブリドーマを無血清培地のような適切な培地中でインビトロ培養することにより、その培養上清から目的の抗GRg1MAbが得られる。MAbを大量に生産する場合には骨髓腫細胞由来動物と同種の動物にプリスタン等の鉱物油を腹腔内投与後、ハイブリドーマを接種する。接種後、腹水を採取し、通常の抗体分離操作により抗GRg1MAbを得る。

#### 【0019】抗GRg1MAbのキャラクタリゼーショ

ン

取得した抗GRg1MAbの免疫グロブリンクラスの間定や軽鎖の特性などは通常の方法（例えば、オクタロニー法）で決定する。また、抗GRg1MAbの分子量は、例えば、シナピン酸をマトリックスとするマルディトフ(MALDI-tof)マスペクトル測定から知ることができる。以下に本発明の特徴をさらに具体的に明らかにするため実施例を示すが、本発明はこれらの実施例によって制限されるものではない。

【0020】

【実施例】実施例1：抗GRg1MAbの作製

(1) 抗原の調製：GRg1（和光純薬より入手）10mgを80%メタノール0.7mlに溶かした溶液を、4mgの過ヨウ素酸ナトリウムを水0.5mlに溶かした溶液に攪拌しながら添加する。1時間反応後、BSA（Pierce社より入手）を溶かした炭酸塩バッファーを上記反応液に添加して5時間攪拌反応する。反応後透析して17mgのGRg1-BSA複合体を得た。HSA（Pierce社より入手）を用いて、同様にGRg1-HSA複合体を調製した。

【0021】(2) 抗原中のハプテン数の検討：得られたGRg1-BSA複合体の微量をとり、過剰のシナピン酸を添加して混合し、この混合物の少量をカセットのウエルに入れ、マルディトフマスにて測定した。そのスペクトラムを図2に示す。図2からBSA1分子に対して平均13分子のGRg1が結合していることを確認した。

【0022】(3) 免疫細胞の調製：GRg1-BSA複合体50μgをフロイントの完全アジュバントに乳濁化させ、BALB/C系マウスの腹腔内に投与した。以後、2週間の間隔で50μgのGRg1-BSA複体のみを100μg投与し免疫を完了した。3日後にマウスを麻酔下屠殺し、ひ臓を摘出した。ひ臓を細断した後、100メッシュのナイロン網でろ過し、ひ臓の単離細胞を得た。

【0023】(4) ハイブリドーマの調製：単離した免疫細胞に低張液(155mM塩化アンモニウム)を加えて赤血球を溶出した後、e-RDF培地で細胞を3回洗浄した。マウス骨髄腫細胞（本発明者の研究室で培養）もe-RDF培地で3回洗浄した。両細胞数を計測しひ細胞と骨髄腫細胞を10:1の割合として遠心をす。上清を捨て、沈殿した細胞を充分解きほぐし、ポリエチレングリコール(PEG)4,000を培地で希釈した50%液を1.0ml滴下して融合を行なった。37、30秒間静置した後、e-RDF培地5mlを5分間かけて添加した。1,000rpmで10分間遠心した。沈殿を10%FCS添加IMDMにより洗い、遠心して上清を捨てた。ヒポキサンチン $10^{-2}$ M、アミノプテリン $4 \times 10^{-7}$ Mおよびチミジン $1.5 \times 10^{-5}$ Mを加えた(HAT)10%FCS添加e-RDF培地を用いて沈殿を再び浮遊させ、96ウエルマイクロプレート

に100μlずつ分注した。3日毎に同一培地を50μl追加し、細胞の増殖を確認した。

【0024】(5) 抗体産生ハイブリドーマのスクリーニング：ハイブリドーマが増殖したウエルの液を採取し、GRg1-HSA複合体を結合させた別のウエルに添加し、直接ELISAによりGRg1に対するMAb産生ハイブリドーマのスクリーニングを行なった。即ち、96ウエルマイクロプレートにGRg1-HSA複合体 $0.1 \mu\text{g} / 100 \mu\text{l}$  / ウエルを分注し、37で1時間インキュベートしてウエルに吸着させた。このウエルに培養上清を100μlずつ分注し抗原抗体反応を行なった。0.05%Tween20含有リン酸緩衝食塩水(TPBS)で3回洗浄した。パーオキシダーゼ標識ヤギ抗マウスIgG抗体(2次抗体)1000倍希釈液をウエルあたり100μl添加し、1時間後にT-PBSで洗浄した。0.003%過酸化水素、ABTS〔2,2'-アジノ-ピス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)〕0.3mg/ml含有クエン酸緩衝液を添加して発色させた。20分後プレートリーダーを用いて405nmの波長で吸光度を測定した。発色したウエルの細胞を採取した。

【0025】(6) 抗GRg1MAb産生ハイブリドーマのクローニング：抗体産生ハイブリドーマを限界希釈してウエルに分注した。抗体産生能を持ち、かつ増殖したハイブリドーマを同様に3回クローニングして所望のクローン、すなわち、GRg1に対するMAbを産生するハイブリドーマ1F4を得た。

【0026】(7) 抗GRg1MAbの調製：上記の抗体産生ハイブリドーマ1F4を無血清培地(100μg/mlインスリン、35μg/mlトランスフェリン、20μMエタノールアミン、25nMセレンウム添加eRDF培地)で37、炭酸ガス培養器で培養した。上清をトリス緩衝液でpH7に調整して、プロテインGアフィニティカラムを用いて精製した。カラムを10mMリン酸緩衝液で洗浄後、吸着している抗体を100mMクエン酸緩衝液(pH2.7)で溶出する。得られた抗体溶液はPBSに対して3回透析し、最後に凍結乾燥して精製した抗GRg1モノクローナル抗体(MAb-1F4)を得た。

【0027】(8) MAbの免疫グロブリンクラスと分子量：精製したMAb-1F4についてオクタロニー法により免疫グロブリンクラスを調べたところ、IgG2bのサブクラスに属し、軽鎖を保有するものであることが示された。また、精製したMAb-1F4にシナピン酸を混合してマルディトフマス(日本電子(株)製)により、純度を確認するとともに分子量を調べたところ、約147,500であった。図3にこの抗GRg1-MAbについて測定したマルディトフマスペクトラムを示す。

【0028】実施例2：競合的ELISAによる定量試

験

実施例1で作製した抗GRg1モノクローナル抗体(MAb-1F4)の性能を調べるため以下のように競合的ELISA法による定量試験を行った。GRg1-HSA複合体溶液(1µg/ml)を100µlずつウエルに添加し1時間反応し吸着させる。非特異的結合を除去するためにスキンミルク添加PBS溶液300µlを加え1時間反応してブロッキングする。50µlの各種濃度のGRg1の20%メタノール溶液を加え、さらに、抗GRg1-MAb溶液(1µg/ml)50µlを添加して1時間インキュベートした。T-PBSで3回洗浄し、1000倍希釈したパーオキシダーゼ標識抗マウス抗体100µlを加え1時間反応した。1時間後にT-PBSで洗浄した。0.003%過酸化水素、ABTS 0.3mg/ml含有クエン酸緩衝液を添加して発色させた。15分後に405nmにおける発色の吸光度測定した。各濃度のGRg1の吸光度から検量線を作成した。その結果を図4に示す。図4に示されるように、GRg1の濃度は、0.3~10µg/mlの濃度範囲において吸光度と良い相関を有し、この抗GRg1-MAbがGRg1に対する優れた定量手段を提供することが理解される。

【0029】実施例3：交差反応性試験

実施例で作製した抗ジンセノシドRg1モノクローナル抗体(MAb-1F4)の特異性を確かめるために、ジンセノシド、各種ステロイドおよびトリテルペン化合物に対する交差反応性を調べた。交差反応性試験の方法は、大略、次のとおりである：各化合物(1mg)を正確に秤り20%メタノール溶液(1ml)に懸濁し10分間超音波処理した。上清を20%メタノール溶液で希釈し各種濃度の検液を調製した。検液およびスタンダードであるGRg1溶液を100µl/ウエルずつイムノプレートに分注し1時間インキュベートした。プレートをブロッキング後、一次抗体溶液[MAb-1F4(1µg/ml)]を加え、1時間インキュベートした。次に、二次抗体溶液を加え1時間インキュベートした後、基質溶液を加え発色強度を測定した。交差反応性CRは、下記の式により算出した：

$$CR(\%) = [(A/A_0 = 0.5 \text{ となる GRg1 の濃度}) / (A/A_0 = 0.5 \text{ となる 検液の濃度})] \times 100$$

0

サンプル	GRg1含有量(µg/mg乾燥重量)			
	ELISA	C.V.(%) <sup>a</sup>	HPLC	C.V.(%)
白 参	2.28 ± 0.02	0.0	1.781 ± 0.07	0.0
紅 参	1.34 ± 0.08	0.0	1.645 ± 0.05	0.0
毛 参	4.98 ± 0.04	0.0	5.392 ± 0.25	0.1
田七人参	22.9 ± 3.20	1.1	25.926 ± 0.32	0.1
西洋人参	3.15 ± 0.23	0.1	2.489 ± 0.04	0.0
竹節人参	0.12 ± 0.01	0.0	—	—

a C.V.(%)(変動係数)は分析を3回繰り返した平均による

【0035】

\*ここで、Aはサンプルの吸光度、A<sub>0</sub>は20%メタノール溶液の吸光度を表わす。その結果を表1に示す。

【0030】

【表1】

化合物	交差反応性(%)
ジンセノシドRg1	100
ジンセノシドRe	3.3
ジンセノシドRb1	<0.93
ジンセノシドRc	<0.93
ジンセノシドRd	<0.93
サイコサポニンa	<0.93
ジキトニン	<0.93
ソラソニン	<0.93
デオキシコール酸	<0.93
グリチリジン	<0.93
エルゴステロール	<0.93
ソラマルジン	<0.93
コレステロール	<0.93
β-シトステロール	<0.93
チクセツサポニン	<0.93

【0031】表1に見られるように、本発明に従うMAb-1F4は、GRg1に特異的に親和性を有するモノクローナル抗体であることが明らかとなり、その他の化合物には殆ど交差反応性を示さなかった。

【0032】実施例4：各種人参のGRg1含有量測定  
実施例1で作製したMAb-1F4を用いるELISA法により各種人参中のGRg1含有量を測定した。測定は、各種人参の粉末10mgをメタノール1mlで5回抽出し、抽出液を合わせて遠心分離に供し、その上清を10%メタノールで適切な濃度に希釈して実施例2に準じて定量することにより行なった。

【0033】その結果を表2に示す。表2には、比較のために行なった従来のHPLC〔カラム：Cosmosil 5 C18-ARII(4.5×150mm)、Nacalai Tesque製〕による結果も示している。表2に示されるように、本発明のモノクローナル抗体を用いるELISA法は、人参中に微量含有されているGRg1も確実に検出することができ、従来から知られたHPLC法とも良い相関(相関係数0.998)があることが確認された。

【0034】

【表2】

は、薬用人参に含まれる主要な配糖体であるGRg1に対してきわめて特異性の高いモノクローナル抗体を提供する。この本発明の抗GRg1モノクローナル抗体をELISA法等の通常免疫測定法に適用すれば、前処理が不要な簡便且つ高感度で再現性の優れたGRg1の分析が可能となり、各種の人参およびその他の植物、それらの諸器官、各種の漢方製剤等に含有されるGRg1を定量することによりそれらの薬理学的品質評価に資することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の抗GRg1モノクローナル抗体を作製\*

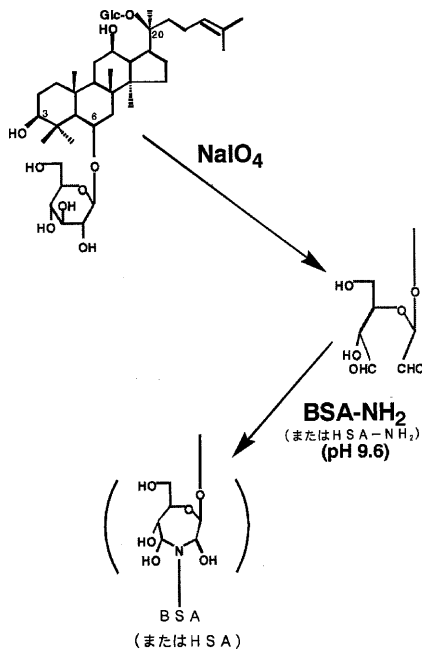
\*するのに用いられるGRg1-BSA(またはHSA)複合体が形成される反応を模式的に示す。

【図2】GRg1-BSA複合体の形成を確認するために測定したマルディトフマスのスペクトラムの1例である。

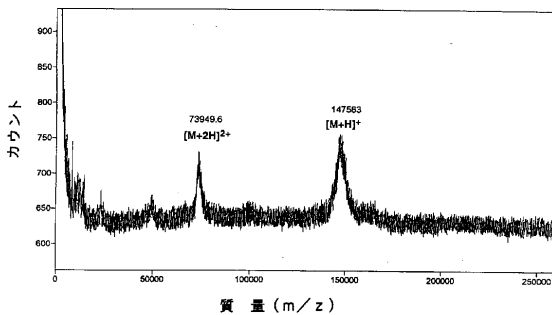
【図3】本発明のモノクローナル抗体の純度を確かめ分子量を調べるために測定したマルディトフマスのスペクトラムの1例である。

【図4】本発明のモノクローナル抗体を用いたELISA法におけるGRg1濃度と吸光度の関係を示すグラフである。

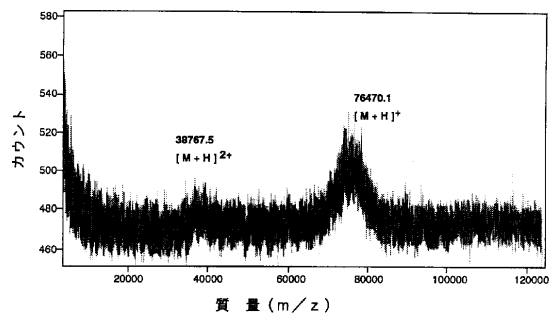
【図1】



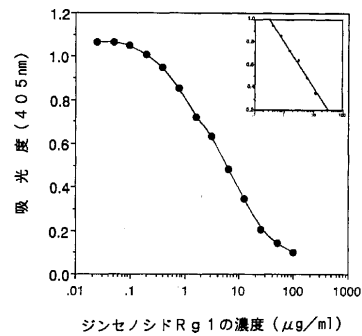
【図3】



【図2】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>  
G 0 1 N 33/577

識別記号

F I  
C 1 2 N 15/00

テ-マ-コ-ド<sup>4</sup>(参考)  
C

(72)発明者 福田 恵子  
福岡県福岡市東区馬出 3 - 1 - 1 九州大  
学薬学部内

F ターム(参考) 4B024 BA53 GA03 HA15  
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA13  
4B065 AA92X AB05 AC14 BA08  
CA25 CA46  
4H045 AA11 AA20 BA42 CA30 DA76  
EA50 FA72

专利名称(译)	抗人参皂苷Rg1单克隆抗体		
公开(公告)号	<a href="#">JP2002069100A</a>	公开(公告)日	2002-03-08
申请号	JP2000258337	申请日	2000-08-29
申请(专利权)人(译)	有限公司, 产学合作机制九州		
[标]发明人	正山征洋 田中宏幸 福田憲子		
发明人	正山 征洋 田中 宏幸 福田 憲子		
IPC分类号	G01N33/53 C07K16/16 C12N5/10 C12N15/02 C12P21/08 G01N33/577		
FI分类号	C07K16/16 C12P21/08 G01N33/53.S G01N33/577.B C12N5/00.B C12N15/00.C C12N5/00.102 C12N5/20		
F-TERM分类号	4B024/BA53 4B024/GA03 4B024/HA15 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA13 4B065/AA92X 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA46 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/BA42 4H045/CA30 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA72		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

解决的问题：提供一种简单的方法来分析人参皂苷Rg1 ( GRg1 )，这是人参中的主要糖苷。单克隆抗体，属于IgG2b的一个亚类，具有κ轻链，可与GRg1特异性反应。通过将用牛或人血清白蛋白与高碘酸钠处理的GRg1反应获得的GRg1-血清白蛋白复合物免疫的动物（优选小鼠）的抗体产生细胞和骨髓瘤细胞融合获得 选择性地培养由此获得的杂交瘤，并筛选和克隆产生针对GRg1的单克隆抗体的杂交瘤。通过将该单克隆抗体应用于免疫测定（如ELISA），可以轻松，高度灵敏地定量GRg1。

