

Production of Monoclonal Antibody against Sulfamethazine and Development of ELISA

C.S. Chae, M.H. Lee, H. Lee, S.Y. Yoon, P.D. Ryu, M.H. Cho

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

축산식품중에 잔류하고 있는 sulfamethazine을 검출하기 위하여 sulfamethazine에 대한 단클론항체를 생산하고 이를 이용하여 효소면역측정법을 개발하였다. 면역원은 sulfamethazine에 KLH를 그리고 흡착항원은 BSA를 glutaraldehyde법으로 결합시켰다.

면역원으로 Balb/c mouse를 면역시킨 다음 비장 형질세포를 얻어 myeloma cell과 융합하여 융합잡종세포를 만들었다. Sulfamethazine에 대한 항체를 분비하는 융합잡종세포를 단계회석법과 ELISA를 이용하여 cloning하여 D2, A9, B8, B1 클론을 얻었다. 이들 클론에서 얻어진 단클론항체를 사용하여 indirect competitive ELISA를 실시하여 표준곡선을 작성하여 본 결과 농도의존성 곡선을 얻을 수 있었다. 4클론중에서 A9 클론을 사용하여 다른 유사한 sulfonamide들과 p-aminobenzoic acid와 교차반응을 조사한 결과 sulfamerazine에 12.5%의 교차반응을 보였으나 다른 설파재에 대해서는 교차반응을 보이지 않았다.

단클론항체와 HRP를 결합시킨 다음 이 결합체를 사용하여 direct competitive ELISA를 실시하여 표준곡선을 작성한 결과 농도의존적인 곡선을 얻을 수 있었다. 이를 실제 시료에서 응용할 수 있는지를 알아보기 위하여 돈육 추출액, 혈장 회석액과 우유를 대상으로 direct competitive ELISA를 실시하였던 바 돈육과 우유에서는 각 0.5ng/ml까지 그리고 돈혈장에서는 5ng/ml까지 검출할 수 있었다.