

Technical Development and Application of Polyclonal and Monoclonal Antibodies against *Bacillus thuringiensis*

許煒南、徐泰浩

E-mail: 8402613@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

本研究以純化的蘇力菌變種-B.t.kurstaki 之晶體蛋白、孢子及晶體蛋白 P1(68KD)免疫Balb/c小白鼠，取其脾臟與P3-NS1/1-Ag-1(NS-1)骨髓瘤細胞在濃度為12.5%-75%的PEG-1500進行融合。在12.5% PEG-1500融合下，針對P1和晶體蛋白可達94.4%及97.2%的融合率。以間接式酵素連結免疫 吸附法篩選，對P1、晶體蛋白兩抗原共得 173個正反應之融合瘤細胞株，經過單株化後，選取32株分泌抗晶體蛋白之單源抗體融合瘤細胞株進一步 分析其特性，其中25株分泌IgG1/k之單源抗體，7株屬於IgG2b/k亞型之抗 體。由其中與抗原反應之10株單源抗體和蘇力菌變種B.t.kurstaki, B.t. israelensis, B.t.tolworthi, B.t.darmstadiensis晶體蛋白進行交差反應，發現針對P1和晶體蛋白之單源抗體與BTT有較顯著之正反應，與BTI均 呈負反應，印證其殺活性範圍之差異。而其中6株單源抗體呈現不同程度 正反應，顯示與原先BTK之determinants具某程度之同源性。在37℃，鹼性碳酸鹽抗原吸附緩衝液及間接式酵素連結免疫吸附法偵測系統下，單源抗體與晶體蛋白為0.05ug-0.25ug/ml濃度下有錯良好的相關性($r>0.99$)。其佈樁實驗標準曲線方程式為 $Y=1.381+0.106X$ 而以0.1N NaOH處理蘇力菌製劑後，實際以單源抗體(2B3)檢測，其結晶毒蛋白含量在 1-2 %之間。

Keywords : *Bacillus thuringiensis* ; crystal protein ; hybridoma clones ; monoclonal antibody ; indirect ELISA

Table of Contents

0

REFERENCES

0