

ディビジョン番号	10
ディビジョン名	分析化学

大項目	1. 分析化学
中項目	1-17. バイオ分析
小項目	1-17-3. イムノアッセイ

概要（200字以内）

イムノアッセイは主に生理活性物質の超微量定量法として幅広い研究分野で利用されている。最近、高感度化と汎用性の拡大を指向して遺伝子操作による抗体の調製やハプテン非競合型測定が試みられている。また、イムノセンサーによる迅速測定、抗体マイクロアレイによる多項目同時測定、マイクロチップを用いる全自動化なども注目される。今後、こうしたハイスループット化とともに質量分析法とのハイブリッド型分析法への発展が期待される。

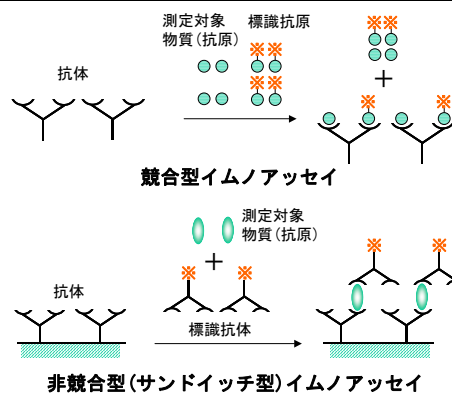


図1. イムノアッセイの原理

現状と最前線

【現状】イムノアッセイは体液や環境試料中成分の超微量定量に威力を発揮し、様々な物質が測定対象になる。競合法と非競合法に分類されるが（図1）、低分子化合物（ハプテン）は競合法で測定される。高分子化合物は非競合法（サンドイッチ法）でも測定が可能で、より高い感度が得られる。測定対象（抗原）または抗体を放射性同位元素、酵素などで標識し、抗原抗体反応の進行を追跡するが、抗原、抗体のいずれかをマイクロプレートに固定化した酵素標識アッセイ系（ELISA）は広く普及している。抗体の結合特性は測定の感度や特異性を決定づける。動物を免疫して得られる抗血清やモノクローナル抗体が使用されるが、後者が主流になりつつある。多くのアッセイ系は抗原抗体反応の後に過剰の試薬を除去する工程が必要であるが、標識物質の工夫などによりこれを省略したホモジニアスアッセイも可能である。以上の方法は実用レベルでほぼ確立され、各種物質の測定キットも市販されている。

【最前線】最近のイムノアッセイ研究の動向は以下のように整理できる。

- (a) 遺伝子操作により、天然の抗体を上回る性能をもつ変異抗体フラグメント [一本鎖 Fv フラグメント (scFv) や単ドメイン抗体 (sdAb) など] を創製する研究が展開されている。従来は調製が困難であったウサギモノクローナル抗体のクローニングも進歩している。
- (b) ハプテンについて高感度な非競合型アッセイ系（置換型イムノアッセイを含む）を構築する試みがなされている。ScFv（または sdAb）と酵素（または蛍光タンパク質）の融合タンパク質を活用したアッセイ系も報告されている。
- (c) 蛍光共鳴エネルギー転移（FRET）を利用した新しいホモジニアスアッセイ（図2）や DNA 断片を標識に用いる超高感度なイムノ PCR 法の開発も注目される。

(d) マイクロチップ内で抗原抗体反応を行い、測定液の体積を超微量化、迅速化、全自動化する試みがなされている。また、水晶振動子、ナノワイヤなどの新素材に抗体を固定化したイムノセンサーや抗体マイクロアレイによる多成分同時測定系の開発など、ハイスループット化を指向する研究が盛んである。

(e) 質量分析法 (MS) と組み合わせたハイブリッド型分析系の構築が試みられている。混合物中の特定成分を固定化抗体で捕捉し、直接 MALDI-MS を測定する。複数成分の同時分析も可能なら、精密な定性情報が得られる。

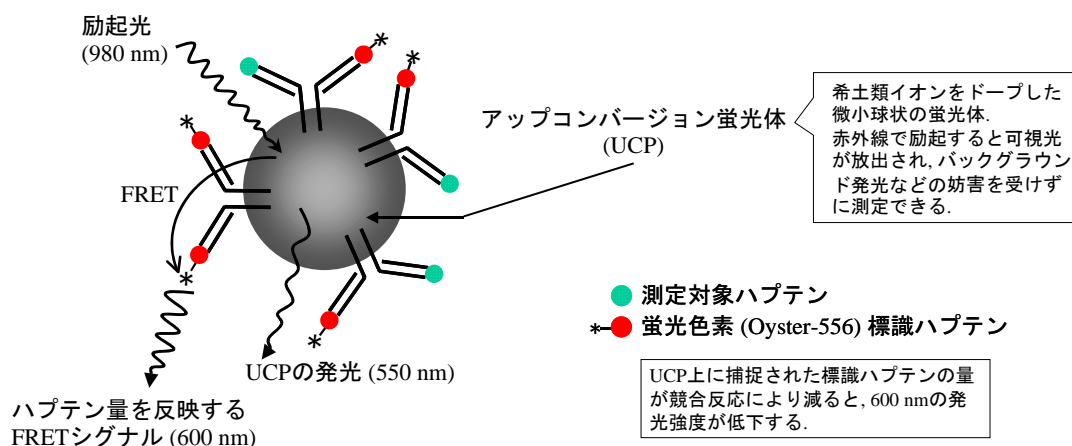


図2. アップコンバージョン FRET を利用するハプテンの新しいホモジニアスアッセイ
Kuningas *et al.*, *Anal. Chem.*, **78**, 4690-4696 (2006).

将来予測と方向性

【5年後までに解決・実現が望まれる課題】

(a) ハプテンにはサンドイッチ法が適用できないためその測定感度に限界 (femtomole レベル) がある。より高感度で汎用性の大きいハプテンの非競合型イムノアッセイ系の開発が望まれる。(b) マイクロチップ、ナノワイヤなどの新素材やナノテクノロジーを用いるハイスループットアッセイ法について、ハンドリングの容易さや運用経費を含めて日常分析レベルへの発展が望まれる。抗体マイクロアレイや MS との連結による多成分同時分析についても同様である。

【10年後までに解決・実現が望まれる課題】

(a) 遺伝子工学により得られる変異抗体は、現状では親和力が小さく、高感度イムノアッセイには適さない。各種抗原に対する高親和力抗体が迅速かつ自在に調製できるようになることを期待する。(b) 抗体に代わる新しい分子認識単位 (強度が大きく生産コストが低いもの) によるアッセイ系の開発が期待される。(c) 1分子計測が可能な超高感度アッセイ系の開発が望まれる。

キーワード

非競合型イムノアッセイ, 変異抗体, イムノセンサー, ハイスループットアッセイ, ナノテクノロジー

(執筆者: 小林 典裕)