

高感度免疫測定法による生体内微量物質の捕捉
Highly Sensitive Determination for Biological Substances
Based on Immunochemical Method

前田 昌子

昭和大学 薬学部

Masako MAEDA, School of Pharmaceutical Sciences, Showa University

生命科学を基盤とする医療の場において、薬学・医学が直面している重要な課題は、種々の疾患の病態解明及び診断に有用な高度の分析技術の開発である。生体の発する情報を正確、迅速かつ高感度に測定する分析技術の開発に対する期待はきわめて大きい。複雑なマトリックスである生体内の微量の病態関連の特定物質を正確、精密かつ再現性よく捕捉する方法の開発は疾病の診断、治療並びに予防に資するだけでなく、病態の解明、治療法の開発に有用な情報を提供する。医療の場において、限られた試料からより多くの情報を得るためには、高感度な検出法が必要であり、方法論の開発に携わるものは常により高感度な検出法を目指して努力を重ねている。免疫化学的測定法（イムノアッセイ）の検出系は比色法から蛍光法、さらに発光法へと進展し、実用化されてきた。本講演では、著者らが開発したルシゲニン化学発光法とさらに高感度な生物発光法を検出に用いたイムノアッセイ、及び、従来イムノアッセイは1回のアッセイで1成分の測定が一般的であったが、同時に関連した成分を幾つか測定出来れば、試料及び試薬のダウンサイズ化とマンパワーの省力化、省エネ化が可能になると考え、生物発光検出と共に、シャープな蛍光スペクトルと遅延蛍光を利用した時間分解蛍光測光法による多成分の同時検出法について紹介する。

1. **ルシゲニン化学発光法によるアルカリ性ホスファターゼ(ALP)の高感度化と化学発光イムノアッセイへの応用**：ルシゲニンの化学発光を詳細に検討し、種々の還元性化合物のリン酸化化合物を基質として用いるALPの化学発光検出活性測定法を構築し、イムノアッセイの検出に応用した。
2. **リコンビナントルシフェラーゼを検出試薬に用いる生物発光検出酵素イムノアッセイの構築**：
 - ① ATP産生酵素のアセテートキナーゼ(AK)を標識に用いる方法
 - ② ATP産生酵素のピルベートホスフェートジキナーゼ(PPDK)を標識に用いる方法
 - ③ AKおよびPPDK両酵素標識による2成分同時測定
 - ④ 2種の色調の異なるビオチン化ルシフェラーゼによる2成分同時測定
3. **検出法として希土類を標識した時間分解蛍光測光法による多成分の同時検出法の確立**：
 - ① α -フェトプロテイン、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、エストリオールの3成分同時アッセイ
 - ② ビタミンDレセプター遺伝子の多型(Apa1及びTaq1部位)の2変異同時解析
 - ③ 神経芽細胞種のマーカーであるホモバニリン酸とバニルマンデル酸の同時測定
 - ④ 病原性大腸菌0-157の毒素(ベロ毒素I及びII)の同時測定
 - ⑤ 病原性大腸菌0-157の毒素(ベロ毒素I及びII)の遺伝子の同時測定
 - ⑥ 胃粘膜の形態と機能を反映するペプシノーゲンI及びIIの同時測定

以上のイムノアッセイの検出系は、生体内の微量の病態関連の特定物質を測定対象とするだけでなく、環境、食品中の微量成分の測定にも応用可能である。特に生物発光検出免疫化学的測定法に関しては、環境に優しく超高感度な第3世代の検出法としてその実用化が待たれている。

本研究は、昭和大学薬学部薬品分析化学教室において、研究に携わった多くの方々の協力の賜であり歴代の職員、研究生、大学院生、学生諸氏及び関係各位に深謝致します。また、終始ご指導、ご支援及びご鞭撻を賜りました辻章夫名誉教授をはじめとする恩師、諸先輩各位に心よりお礼を申し上げます。