

## 29-0332 W127-3

イクオリン標識抗ジゴキシゲニン Fab 抗体とビオチン化ルシフェラーゼを検出に用いる二成分同時生物発光イムノアッセイ

○西村 和香<sup>1</sup>, 伊藤 克敏<sup>1</sup>, 荒川 秀俊<sup>1</sup>, 五味 恵子<sup>2</sup>, 井上 敏<sup>3</sup>, 前田 昌子<sup>1</sup> (<sup>1</sup> 昭和大薬,<sup>2</sup> キッコーマン (株),<sup>3</sup> チッソ (株))

【目的】我々はイクオリンとビオチン化ルシフェラーゼの迅速同時生物発光測定法を前年会で報告した<sup>1,2)</sup>。本報告ではこれら二つの発光タンパク質をイムノアッセイの標識に用いる二成分同時イムノアッセイを試みた。

【方法】抗前立腺特異抗原 (PSA) 抗体と抗前立腺酸性ホスファターゼ (PAP) 抗体を固相化したプレートの各ウェルに、PSA、PAP 標準溶液を各々10  $\mu\text{L}$ 、ビオチン化抗 PSA 抗体溶液、ジゴキシゲニン化抗 PAP 抗体を各々50  $\mu\text{L}$  加え室温で2 時間放置した。洗浄後、イクオリン標識抗ジゴキシゲニン Fab 抗体溶液、ストレプトアビジン - ビオチン化ルシフェラーゼ複合体溶液を各々50  $\mu\text{L}$  添加し室温で一時間反応させた。再洗浄後、最初に 50 mM カルシウム溶液 100  $\mu\text{L}$  を加え、直後に1 秒間のイクオリン由来の発光を測定した。次に、ルシフェラーゼの基質溶液 100  $\mu\text{L}$  を加えた2 秒後の1 秒間のルシフェリン由来の発光を測定した。なお PSA と  $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP) の二成分同時イムノアッセイも同様の方法で行った。この場合はジゴキシゲニン化抗 PSA 抗体、ビオチン化抗 AFP 抗体を使用した。

【結果】最適条件下における PSA と PAP の二成分同時イムノアッセイでは、各々の最小検出感度は  $5.92 \times 10^{-17}$  mol/assay(PSA),  $7.14 \times 10^{-18}$  mol/assay(PAP), 同時再現性は 4.5~11.4 (PSA, CV%, n=8), 4.5~13.5 (PAP, CV%, n=8) であった。また、PSA と AFP の二成分同時イムノアッセイでは、各々の最小検出感度は  $7.14 \times 10^{-18}$  mol/assay(PSA),  $2.07 \times 10^{-18}$  mol/assay(AFP), 同時再現性は 4.8~8.2 (PSA, CV%, n=8), 4.4~9.0 (AFP, CV%, n=8) であった。これらの感度は血清試料を測定するのに充分適しており、現在適用を検討している。1) 日本薬学会第 124 年会要旨集 - 3, 59  
2) W. Nishimura, *et al. Luminescence* 19, 167(2004)