

28P-pm01S

タンパク質超高感度測定法による血中インスリン測定

○青木 加奈¹, 田井 桃子¹, 兼田 麦穂¹, 児玉 裕美¹, 森川 美佳¹, 伊藤 悦朗¹, 渡部 聡², 吉村 昭毅³, 三浦 敏明⁴(¹徳島文理大香川薬, ²ビーエル, ³北医療大薬, ⁴北大院薬)

1. 目的

われわれはこれまでに、ELISA 法とチオ NAD 酵素サイクリング法とを組み合わせて、標的のタンパク質やペプチドを超高感度に測定する方法(チオ NAD サイクリング ELISA 法)を開発してきた。今回、このチオ NAD サイクリング ELISA 法を用いた血清中のインスリンの超高感度測定について報告する。

2. 方法

チオ NAD サイクリング ELISA 法では、ELISA 法により得られた生成物をサイクリングすることにより、発色物質(チオ NADH)を二次関数的に増幅させ、測定対象である極微量タンパク質を超高感度定量することができる。

3. 結果と考察

われわれの超高感度測定法では、血清中でのインスリンの添加回収試験がほぼ 100%となり、血清中に含まれる夾雑物で測定が阻害されることはなかった。WHO 標準品を用いた場合の検出感度は 10^{-17} mol であり、市販の血清中インスリン測定用 ELISA キットよりも少なくとも 1 桁高感度であった。しかし、市販のキットを用いた場合はメーカー間で測定値に大きな違いがあるため、最近はリコンビナントタンパク質の利用が推奨されている。そこでリコンビナントタンパク質を標準品とした場合は、検出感度が 10^{-19} mol という超高感度な結果が得られた。