

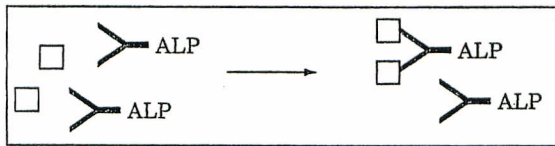
トピックス

ハプテン性抗原に対するフローイムノアッセイ

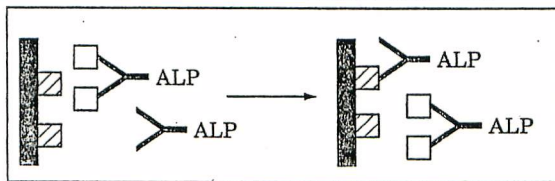
酵素免疫測定法 (EIA) は、抗体のもつ高い分子識別能と、標識酵素の有する高い検出感度を利用した分析技術である。マイクロプレートを反応場を用いて、抗体または抗原をプレート表面に不溶化した固相 EIA が一般的に利用されているが、近年、この EIA をフローインジェクション分析法により簡易・迅速化する試みが活発になされている。

最近、Bauer らはハプテン性の低分子抗原に対する実用的なフローイムノアッセイ法を提案し、コカインの分析に適用した (図 1)¹⁾。測定は非競合法に基づくもので、まず測定試料 (ここではコカイン) と酵素標識抗体をサンプルループ内で合流させながら 30 秒間インキュ

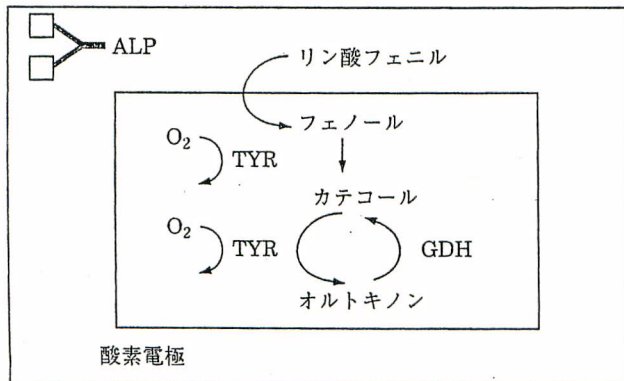
1) ハプテン性抗原と酵素標識抗体との間の免疫複合体の形成



2) 免疫複合体を形成していない酵素標識抗体の分離



3) アフィニティー分離された免疫複合体の電気化学的検出



□, ハプテン性抗原 (コカイン); ▣, 固定化ハプテン性抗原 (コカイン); ALP, アルカリホスファターゼ; TYR, チロシナーゼ; GDH, PQQ 依存性グルコース脱水素酵素

図1 フローイムノアッセイの原理図¹⁾

ベートし、抗原を固定化したアフィニティーカラムに送液する。このカラム内で試料溶液中の抗原分子と免疫複合体を形成していない過剰の酵素標識抗体は捕捉され、複合体のみがカラムを通過する。標識酵素としてはアルカリホスファターゼ (ALP) が用いられており、この酵素活性をチロシナーゼとピロロキノリンキノン (PQQ) 依存性グルコース脱水素酵素を固定化したクラーク型酸素電極で検出する。アフィニティー担体としてパーフェュージョンクロマトグラフィーに利用されているポロス樹脂を用いたことで、わずか5秒で免疫複合体の分離が可能になり、200回以上のアッセイでもカラムの再生は必要とされなかった。また、ALPの活性測定に用いた増幅型の電気化学検出法は、ALPをzmolオーダーで検出可能であった。その結果、26検体/時の分析速度で、検出限界380 pM (38 fmol) という高感度なコカイン分析が可能となった。

本法は、感度、迅速性、カラムの安定性の点から極めて実用性の高い方法であると考えられる。従って、今後、様々なハプテン性低分子への幅広い適用と共に、ハプテン以外的高分子物質への適用も期待される。

1) C. G. Bauer, A. V. Eremenko, A. Kuhn, K. Kürzinger, A. Makower, F. W. Scheller: *Anal. Chem.*, 70, 4624 (1998).

[高知大学農学部 受田浩之]

第2高調波顕微鏡

第2高調波発生 (second harmonic generation: SHG) による界面の測定は、非等方的な配向をしている分子のみを選択的に検出できるという特徴がある。しかし、光電子増倍管を用いる一般的な SHG 測定では SH 光の二次元分布をマイクロに知ることはできない。実際の界面では二次元的な構造が均一であることはむしろまれである。特に、界面に吸着した有機分子が結晶性のドメインや J-会合のような分子会合体を形成する場合には、生成する SHG 信号はドメインや会合体内のマイクロな秩序性の影響を強く受ける。このような系における非線形光学現象を定量的に考察するためには、マイクロな SHG 信号の分布 (SH 像) を明らかにする必要がある。

光学顕微鏡と高感度 CCD カメラを用いて SH 像を得る方法は比較的簡便であり、いろいろな界面に応用できる¹⁾。Flörshemer^{2)~4)}らは2本のレーザービームを水面で斜めに交差するように入射させ、水面に対して垂直に発生する反射 SH 光を顕微鏡と CCD で検出することにより、2-dococylamino-5-nitropyridine (DCANP) 水面単分子膜のドメインを明瞭な SH 像として観測し