

E307

センサーチップ上への低分子抗体の固定化と抗原検出

(京工織大物質工) (正)熊田 陽一・○(学)佐々木榮樹

(京大再生医科学研) 有馬 祐介・岩田 博夫・(京工織大物質工) (正)岸本 通雅*

【緒言】

ポリスチレン(PS)基板は免疫測定をはじめ、抗体固定化用担体として広く利用されている。これまでの研究でポリスチレン親和性ペプチド(PS-tag:PS19-6:RIIIRIRRR)を融合した一本鎖抗体(scFv-PS)を用いて親水性 PS-plate 上への高密度かつ配向的な固定化技術を開発してきた。本研究では scFv-PS の QCM センサーならびに SPR センサーへの利用を目的とし、センサーチップ表面への PS 薄膜の作成ならびに scFv-PS の固定化方法について検討した。

【実験操作】

抗 C-reactive protein(CRP)一本鎖抗体(scFv)の c 末端に PS-tag を融合させた scFv-PS をモデルとして用いた。QCM センサーチップの金薄膜上にトルエンに溶解した 1.5wt%-PS 溶液を 6,000rpm, 1min でスピコートし、次いで酸素 plasma 処理(30w, 60sec)によって表面を親水化した。4M 尿素溶液中における scFv-PS のセンサーチップ表面への吸着挙動を QCM センサーによりモニタリングした。また、SPR センサーチップ上でも同様の操作で scFv-PS を固定化した。センサーチップを PBST で洗浄し 2%BSA-PBST でブロッキング後、10 μ g/ml-CRP 抗原を添加した。このときの scFv の活性を CRP 抗原吸着量で評価した。

【結果および考察】

金薄膜上での検出可能な有効測定距離は QCM で 200nm、SPR では 100nm である。スピコートによって QCM センサーチップ上に膜厚約 70nm の PS 薄膜を作成した。酸素 plasma 処理を行ったところ Fig.1 に示すように plasma 照射時間に比例してセンサーチップ上の PS 薄膜が消失することが明らかとなった。以上の結果からセンサーチップ上において plasma 照射時間を変化させることで PS 薄膜の膜厚を有効測定距離内に制御することが可能と考えられる。Fig.2 に PS 薄膜上における scFv-PS の吸着挙動を示す。scFv-PS 濃度の上昇に伴って吸着速度が上昇し、吸着密度は約 1.2 μ g/cm² でほぼ飽和した。また、SPR

センサーチップ上における scFv-PS の吸着密度もほぼ同程度の値が得られた。さらに、scFv-PS 固定化センサーチップを用いて抗原検出を試みた。Fig.3 に示す通り、10 μ g/ml の抗原溶液をアプライしたところ、センサーチップ上への抗原吸着に相当する SPR シグナルが得られた。以上の結果よりセンサーチップ上に固定化された scFv-PS は抗原結合活性を保持していることが明らかとなった。

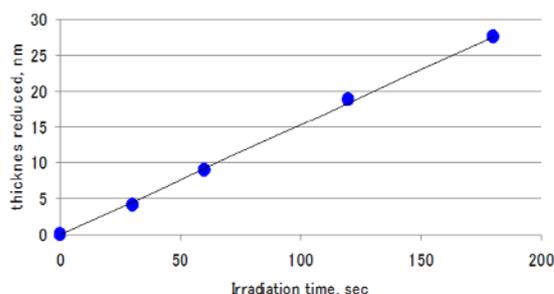


Fig.1 plasma照射時間と消失膜厚の関係

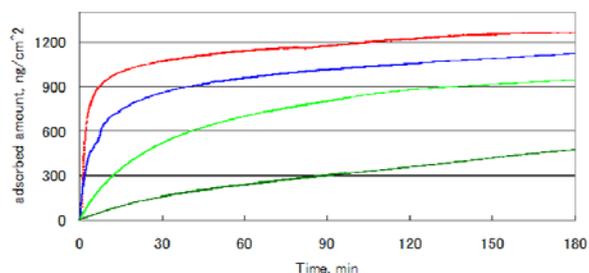


Fig.2 QCMセンサーチップ上へのscFv PSの吸着挙動

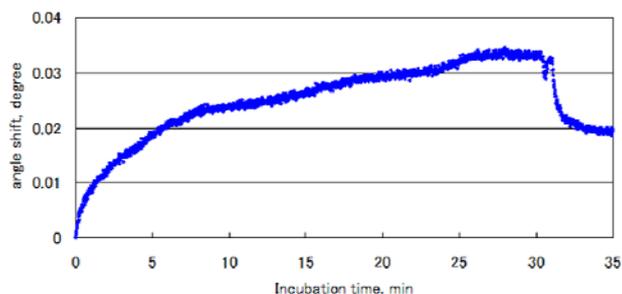


Fig.3 scFv PS固定化センサーチップを用いる抗原検出

*連絡先：075-724-7539

kishimoto@chem.kit.ac.jp