

## 表面プラズモン共鳴法によるカインेटクス解析と定量法

岩野 直哉

バイオメディカル分析研究部

**要旨** 分子間相互作用解析・評価や定量として、表面プラズモン共鳴 (SPR, Surface plasmon resonance) 法が脚光を浴びている。Sierra SPR®-24Pro (Bruker)は 24 個のセンサースポットを有し、最適な条件探索から複数試料の評価までハイスループットで迅速な測定が可能である。再生化溶液を使用しない Sierra SPR 独自のカインेटクス解析技術を紹介するとともに、従来、困難あるいは時間を要していた非常に強い親和性を示す抗体のカインेटクス解析結果を示す。また、SPR を利用し、HCP (Host Cell Protein)の高感度な定量法を開発したので報告する。

### 1. はじめに

表面プラズモン共鳴 (SPR, Surface plasmon resonance) 法はセンサーチップ表面における質量変化を屈折率の変化としてリアルタイムに検出する手法であり、分子間のインタラクション評価や定量の検出法として利用されている。図 1 に装置の概略図を示す。センサーチップの金/ガラス界面に全反射するように光源から入射角を変化させて光を照射すると、反射光強度が低下する共鳴角度が見られる。この共鳴角度はセンサー表面近傍の屈折率に応じて変化することから、共鳴角度の変化はセンサー表面の吸着物量の変化を反映し、SPR response としてモニターできる。そのため、センサーチップに固定化された分子 (Ligand) に対して Analyte をインジェクションした際に、センサー表面上で Ligand と Analyte の結合が生じると、Analyte の吸着量増加として SPR response の上昇が見られる。一方で、Ligand と Analyte が結合した状態から Analyte が解離すると SPR response の減少が見られる。この様子をリアルタイムにモニターすることでカインेटクス解析が評価可能であり、結合の様子と解離の様子を理論曲線に当てはめることで結合速度定数 ( $k_a$ )、解離速度定数 ( $k_d$ )、解離定数 ( $K_D$ ) を算出できる。また、Analyte 濃

度に依存した SPR response を用いて検量線を作成することで定量が可能である。本稿では、Sierra SPR®-24Pro (Bruker, 以降 Sierra と記載)を用いて抗体抗原反応のカインेटクス評価と HCP (Host Cell Protein)の定量を実施した結果を紹介する。

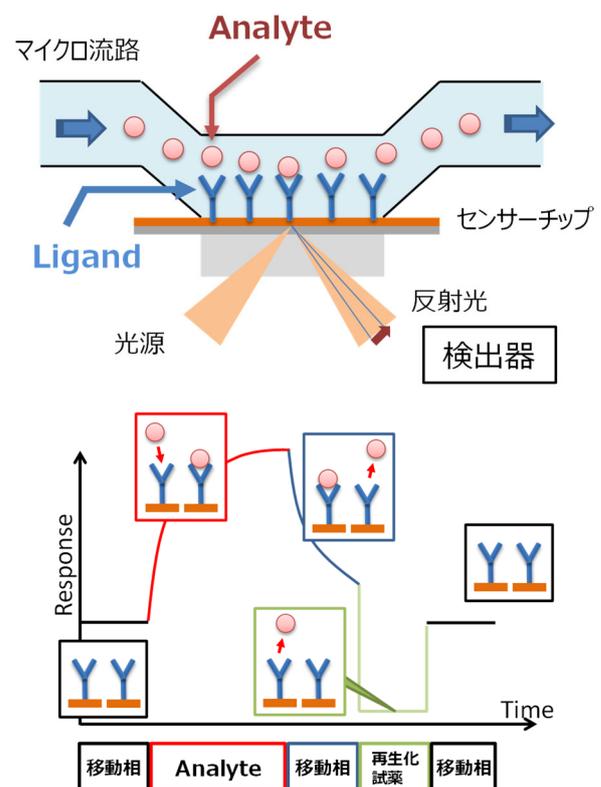


図 1 SPR 法概略図