

表面プラズモン共鳴(SPR)を用いた抗体価測定法

医薬事業本部 バイオ技術センター 黒田 幸弘

1 はじめに

今日さまざまな生物医薬品が開発されていますが、これらが生体に投与された時、「異物」と認識され、投与薬物に対する抗体が体内で産生されることがあります。異物が生体に抗体を産生させる性質を抗原性といい、抗体の産生量を抗体価と呼びます。医薬品の抗原性が問題となるとき、薬理活性の消失(=中和)だけで済む場合が多いですが、生命に関わるほどの重篤な副作用が現れることもあります。例えば、ある種のエリスロポエチン(EPO)製剤では、産生された抗体が内因性EPOのみならず他種のEPO製剤をも中和する活性を持っていたために、各種EPO製剤での治療が困難となりました。このように重篤な副作用発現の危険性があるため、抗原性の低減とその確認が重要視されています。本稿では、弊社で実施している抗体価測定の一部を紹介いたします。

2 抗体価測定

表面プラズモン共鳴(SPR)を用いたバイオセンサーは分子間相互作用の結合性、結合速度などを測定するための装置です。SPRの原理については成書¹⁾にゆずりますが、この装置を一言で説明すると、相互作用する分子種の一方が固定化されたセンサーチップ上に、相手分子種を含む溶液を流すことで、結合性や結合速度を測定・評価するものです。各社からいろいろな機種が販売されていますが、広く普及している装置はピアコア社のBiacoreシリーズです。

Biacoreでの測定では、測定の目的を問わず、まず結合される側の分子をセンサーチップ上に固定化します。抗体価測定の場合、センサーチップ上に生物医薬品を固定化し、次に薬物投与個体の血清を流しますが、そこに特異的な抗体が含まれていればセンサーチップ上の薬物と結合し、SPRレスポンスが変化します。一方で、ブランク基質に陽

性コントロール抗体を添加したものをを用いて検量線を作成しておけば、試料血清中に含まれる抗体濃度を知ることができます。抗体価測定の目的でイムノアッセイ法(RIA, ELISA)も用いられていますが、Biacoreの方が測定精度で優れています。しかし、さらに大きな特長として、結合/解離速度を個別に評価できることが挙げられます。抗体のなかには解離速度が速いために結合定数が小さいものがあり、このような抗体が高い中和活性を持つ傾向があると言われています。これらはイムノアッセイ法では洗浄過程で解離・消失するために検出できませんが、Biacoreでは測定可能です。

3 抗体のアイソタイピング

Biacoreのもう一つの利点として、抗体のアイソタイピングが容易であることが挙げられます。その操作としては、薬物固定化から薬物投与個体の血清を添加するところまでは抗体価測定と同じですが、次に抗IgG抗体や抗IgM抗体の溶液をセンサーチップ上に流します。例えば、固定化された生物医薬品に結合した抗体がIgGであれば、次に抗IgM抗体を添加してもSPRレスポンスは変化しません。しかし抗IgG抗体を添加すればレスポンスに変化が生じ、結果的に血清中の抗体がIgGであることがわかります。一般に、抗体発現の初期にはIgMが、それ以降にはIgGが多く産生されるので、アイソタイピングによって免疫反応の進行度を知ることができます。

4 おわりに

上述のようにBiacoreによる抗体価測定法はイムノアッセイ法と比べ、結合性の小さい抗体も測定可能で、精度に優れ、抗体のアイソタイピングもできること、等から、生物医薬品の開発および市販後調査における抗体価測定の有力なツールとなりました。また、ワクチンや免疫療法薬の開発などにも応用することもできそうです。

当社では、これらの技術を幅広く活用し、広くお客様のご要望や問題解決のための受託分析を行っています。

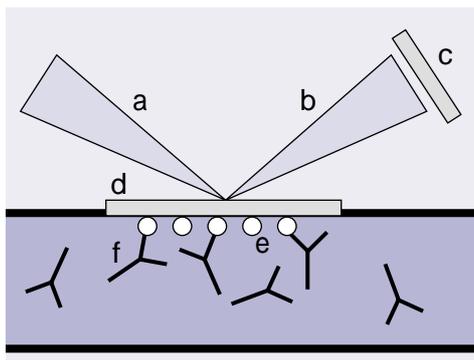


図 ピアコアによる抗体価測定の原理図

a: 入射光
b: 反射光
c: 検出器
d: センサーチップ
e: 固定化抗原
f: 抗体

参考文献

1) 永田和宏, 半田宏(共編), 生体物質相互作用のリアルタイム解析実験法, シュプリンガーフェアラーク東京, 1998.



黒田 幸弘
(くろだ ゆきひろ)
医薬事業本部
バイオ技術センター