

● 表面プラズモン共鳴法を用いた血清中抗体濃度測定

TN270

Immunogenicity Assay Using Surface Plasmon Resonance Biosensor

【概要】

バイオ医薬品が生体に投与されると「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。特にその薬物が内因性成分と類似する場合、産生される抗体は自己抗体となり、生命にかかわる重篤な副作用をひき起こします。従って、バイオ医薬品の開発において、免疫原性の評価は最重要評価項目のひとつとなっており、血清中の抗体濃度測定は特に重要とされています。当社では、表面プラズモン共鳴バイオセンサーで定評のある Biacore 社の装置を使用し、血清中抗体濃度の測定サービスを実施しております。本稿ではヒトエリスロポエチン（EPO、市販品）をセンサーチップ上に固定化し、ヒト血清（標準検体）中の抗 EPO 抗体濃度を測定した事例を示します。

【特長】

1. ELISA 法では検出できないような親和性の低い抗体も検出可能¹⁾
2. 測定値のバラツキが小さい²⁾
3. 二次抗体（非標識）を添加することで、容易に抗体のクラスタイピングが可能³⁾
4. タンパク質の血清中薬物濃度測定にも応用可能

【試験内容】

1. 試料
緩衝液で希釈したヒトまたは動物の血清
2. 測定法
 - 1) タンパク質の固定化
 - ・ 抗原性評価の対象となるタンパク質をセンサーチップ上に固定化
 - ・ 固定化には、汎用的なアミンカップリング法だけでなく、種々のカップリング法の適用も可能
 - 2) 測定
 - ・ 試料をセンサーチップに一定時間添加
 - ・ 添加終了後のレスポンス値から結合量を算出

[測定例]

ヒトエリスロポエチン (EPO、市販品) を固定化し、ヒト血清 (標準検体) 中の抗 EPO 抗体濃度を測定しました。0.35~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で検量線が作製でき、再現性も良好でした (Fig. 1, 2、Table1)。

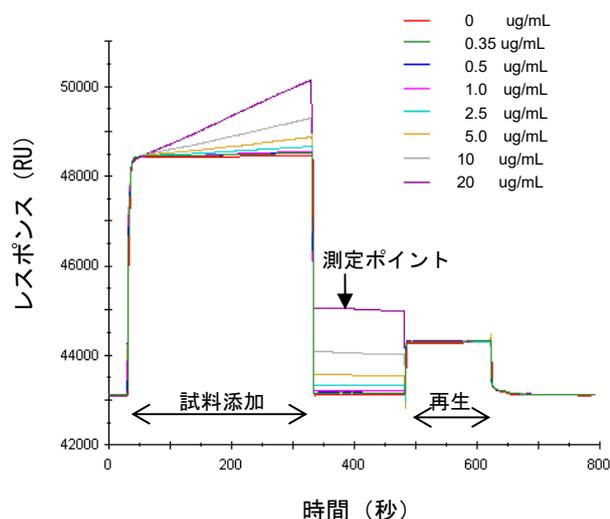


Fig. 1. 表面プラズモン共鳴装置のセンサーグラム

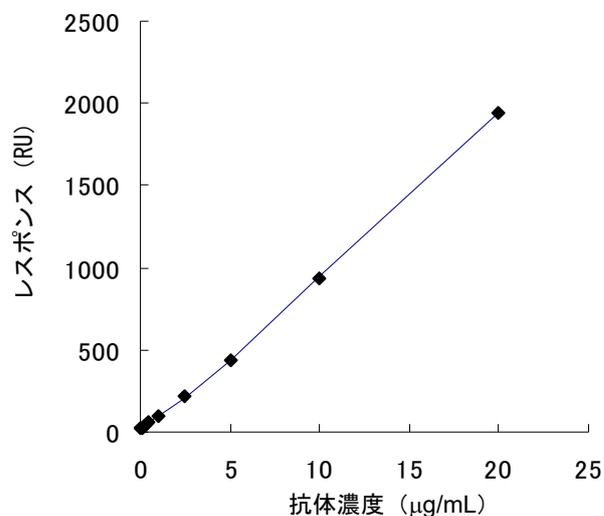


Fig. 2. 抗体濃度とレスポンスの関係 (検量線)

Table 1. 抗体濃度測定における検量線の真度及び品質管理試料の再現性

真度

抗 EPO 抗体濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.35	1.0	5.0	20
真度 (%)	14.1	7.8	-0.5	0.0

再現性

抗 EPO 抗体濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.35	1.0	5.0
同時再現性 *1) (%)	17.1	1.8	0.6
日差再現性 *2) (%)	9.8	2.0	0.7

*1) 測定値 (n=6) の相対標準偏差

*2) 測定値平均値 (n=3) の相対標準偏差

[参考文献]

- 1) S.J. Swanson, New Technologies for the Detection of Antibodies to Therapeutic Proteins, in *Immunogenicity of therapeutic Biological Products*, F. Brown, AR. Mire-Sluis (eds), Dev Biol. Basel, Karger, 2003, 112, 127-133.
- 2) http://www.biocore.com/lifesciences/protein_interactions/proteins_therapeutics/immunogenicity/index.html
- 3) S.J. Swanson, D. Mytych, J. Ferbas, Use of Biosensors to Monitor the Immune Response, in *Biologics 2000 - Comparability of Biotechnology Products*, F. Brown, A. Lubiniecki, G. Murano (eds), Dev Biol Stand. Basel, Karger, 2002, 109, 71-78.