

平成 19 年度顕在化ステージ 事後評価報告書

シーズ顕在化プロデューサー所属機関名:株式会社ビーエル

研究リーダー所属機関名 : 徳島文理大学

課題名:チオ NAD サイクリング応用超高感度酵素免疫測定法の開発および使用酵素の探索と開発

1. 顕在化ステージの目的

本研究開発では、画期的な増感法であるチオ NAD サイクリング法に酵素免疫測定法を組合せた、 10^{-20} moles (数千分子)レベルのタンパク質の定量が可能な超高感度酵素免疫測定法と測定法に最適な酵素の開発を行う。この超高感度免疫測定法では幾何級数的にチオ NADH (λ_{\max} 400 nm)が生成され、既存の酵素免疫測定法の 10 万倍レベルの感度を持つ。

しかも、市販されている標識酵素(例えばアルカリホスファターゼ標識抗マウス IgG)を使用した超高感度酵素免疫測定法の開発も可能であり、汎用性の非常に広い、数千分子レベルのタンパク質の定量が可能な、バイオ分野での基本ツールとなりうる測定法が開発できる。

2. 成果の概要 ※研究実施者の完了報告書より抜粋

○大学の研究成果

3α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼによるチオ NAD サイクリング反応の条件検討を詳細に進めた結果、6000 回転/分までサイクリング率を高める事ができた。標識酵素との組合せによる算術級数的な超高感度化が無くても、10 分間の反応で従来の測定 60,000 倍の感度が出せるようになった。また、標識酵素とチオ NAD サイクリング反応の組み合わせによる 10^{-18} moles の検出感度も通常の ELISA の 1000 倍の感度に相当し、従来測定できなかった微量タンパクや感度不足で測定精度に欠けていた測定項目への応用が相当期待できる。

○企業の研究成果

アルカリホスファターゼ(ALP)標識抗体を用いて、大学での検討により確立されたチオ NAD サイクリングを応用した超高感度 ELISA に適用し、標準物質を使用してサンドイッチ法による Pumilio の測定を行った。Pumilio は試料中濃度で 0.5 ng/mL (1.8×10^{-16} moles)まで測定できた。超高感度とはいかないが、現時点でも従来の ELISA 法の 10 倍程度の感度が得られている。

実際にタンパク質をチオ NAD サイクリング応用超高感度酵素免疫測定法で測定できることが確認でき、実用化の可能性が高くなった。

3. 総合所見

概ね期待通りの成果が得られ、イノベーション創出が期待される。1 年間の検討で、目標値に近い高感度化を達成した。今後、本法の活用範囲を拡大していくことが望まれるとともに、新たな酵素の適用などでブレイクスルーがあれば、更なる感度向上が期待できる。