熊田 陽一 准教授

お問合せ先
corc@kit.ac.jp
産学公連携推進センター

生体分子間相互作用の工学的応用

ポリスチレン親和性ペプチドを用いる高速医療診断技術

■キーワード
イムノアッセイ　ポリスチレン親和性ペプチド　ポリスチレン　ELISA　抗体　迅速検出
バイオアフィニティ

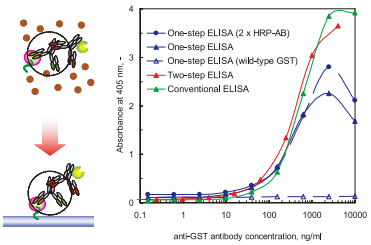
■研究の概要

抗体の抗原に対する特異性・親和性を利用したイムノアッセイは、医療診断分野を中心に広く用いられていますが、操作が煩雑な上、その検査時間は6時間から1日以上を要します。本法は、特殊加工処理したポリスチレンプレートとポリスチレン親和性ペプチド(PS-tag)を標識した抗体を用いることで、感度を損なうことなく検査時間を1/10以下に短縮できます。本法は、現行のイムノアッセイ技術のほとんどに適用可能であり、迅速かつ正確な診断結果が要求される医療診断やBSE試験および環境汚染物質の定量検査等において非常に有効な検査技術です。

■研究・技術のプロセス／研究事例

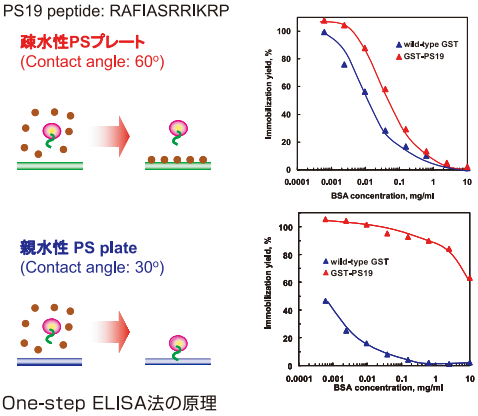
本研究では、ELISA法の吸着固相として汎用的に用いられているポリスチレンプレートに特異的・親和的に作用するペプチド(PS-tag)をスクリーニングし、これを利用した迅速かつ簡便な検出方法（One-step　ELISA法）を開発しました。PS-tagを結合したリガンド抗体（または抗原）は、高濃度の夾雑タンパク質存在下においても親水性ポリスチレンプレート上に選択的かつ効率的に吸着することができます。このPS-tagの特異的吸着現象を利用して、溶液中で迅速に形成させた免疫複合体を直接PSプレートに固定化できます。その結果、1段階のインキュベート操作および洗浄操作によって、従来法と同程度またはそれ以上の感度およびシグナル強度で検体の検出が行えます。本研究で開発したワンステップ免疫測定法は、従来行われてきた様々なアッセイフォーマットに応用可能であり、汎用性の高い検出方法です。

PS-tag融合抗原を用いる特異抗体のOne-step ELISA

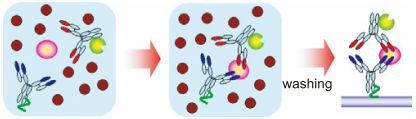


PS-tag結合タンパク質の部位特異的固定化技術

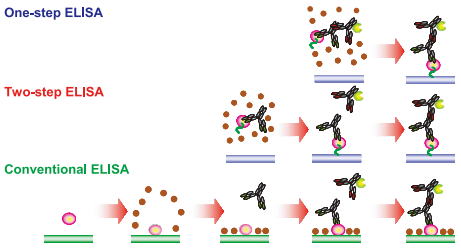
PS19 peptide: RAFIASRRIKRP



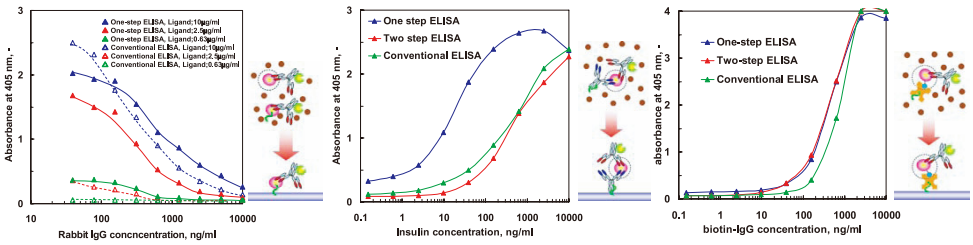
One-step ELISA法の原理



検体は溶液中でリガンド抗体および酵素標識抗体と迅速に免疫複合体を形成します。形成された免疫複合体は、リガンド抗体に結合しているPS-tagの特異性・親和性によって親水性PSプレートに選択的に固定化されます。



PS-tag結合抗原、抗体およびストレプトアビジンを用いるOne-step ELISAの応用例



競争アッセイ (抗原)　　サンドイッチアッセイ (抗原)　　サンドイッチアッセイ (ビオチン化抗原)

■セールスポイント　本法は、現行のELISA法のアッセイフォーマットをそのまま応用できるので、本提案により操作を単純化、長い操作時間を短縮できれば、微量分析分野における国内及び海外のシェアを獲得できると考えています。更に、本法の利点を生かせば困難であった新規バイオアッセイの開発と、それに伴う新たな市場の開拓も可能です。

特許情報　特許第5553336号・特許第5582482号・特許第5582483号