

ビーズインジェクション (BI) 法によるバイオアッセイ

埼玉工業大学 長谷部 靖

生物を用いるバイオアッセイは生理活性物質の機能評価や薬物スクリーニングなどに利用されている。一般に生理活性物質の機能は細胞膜や原形質に存在する各種受容体 (レセプター) への結合をトリガーとして発現する。レセプター・リガンド間の平衡論的・速度論的な解析は、放射性化合物を標識する Radioligand binding (RLB) 法や、表面プラズモン共鳴 (SPR) により行われている。しかしこれらの方法は単離したレセプターを用いるため結果が必ずしも生理機能を直接反映するわけではなく、また単離により活性を失うレセプターも少なくない。一方、生細胞を利用する生物学的測定では、特異性、正確性、鋭敏性、経済性などが要求されるものの、実際には得られる応答が一過性で再現性に乏しく、同一細胞の繰り返し利用が困難な場合が多いため、一般には膨大なデータを統計学的に処理して結果を評価することが多い。

最近 J. Ruzicka らのグループはリガンドを固定化したマイクロビーズをキャリアに分散させる方式のビーズインジェクション法 (BI 法) を提案し[1]、ハムスター卵巣細胞を用いて薬物による細胞呼吸活性の自動測定[2]や、薬物-受容体間

の相互作用の速度論的解析[3]に応用した。Fig.1 に BI 法によるバイオアッセイシステムの概略図および Fig. 2 に Jet-ring セル (J-R セル) の断面図を示す。一連の測定はまず生細胞を培養固定したビーズをキャリアに分散させ J-R セルに一時的にストックする(A)。次に一定時間試料をセルに導入して反応させた後(B)、ビーズを洗浄し(C)、最終的にビーズはセルから廃棄される(D)。その間 J-R セルに密着した検出器でセル内の反応はリアルタイムに計測される。1サイクルの測定時間は約 300 秒から 400 秒である。検出はビーズに固定化した蛍光色素を利用している。また導電性を有するグラファイトビーズを利用すれば電気化学的な検出も可能である。BI 法では1サイクルの測定ごとにビーズが交換されるため、生物材料の失活の影響が無視でき、結果として再現性に優れたデータを比較的短時間で得ることができる。また SPR と同様に対象物質との相互作用をリアルタイムに計測することにより、細胞・薬物間相互作用の速度論的・平衡論的な解析が可能である。

以上のように BI 法は、FIA の簡便性、鋭敏性、再現性を利用して生物分析の自動化を可能にした。BI 法の原理はバイオアッセイのみならず、化学センサ、免疫アッセイ、アフィニティクロマトグラフィー、スペクトロフォトメトリー、電気化学分析などにも応用が可能であり、今後の進展が期待される。

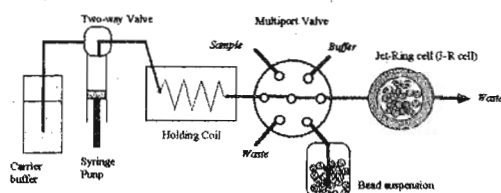


FIGURE 1 Schematic diagram of the BI-based biosensor

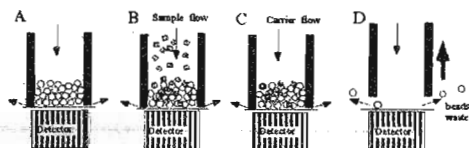


FIGURE 2 Measurement protocol of BI-based biosensor
(A) Beads with immobilized cell are loaded into the cell. (B) Beads are purified with sample ligand. (C) Bound ligand gradually dissociates and is carried away. (D) A gap is created with allows the used beads to be flushed to waste.

- 1) J. Ruzicka, L. Scampavia, *Anal. Chem.*, **71**, 257A-263A (1999).
- 2) I. Lahndesmaki, L. D. Scampavia, C. Beeson, J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **71**, 5248-5252 (1999).
- 3) P. S. Hodder, C. Beeson, J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **72**, 3109-3115 (2000).