

分子間相互作用並列測定のための抗体修飾基板における架橋剤の検討

Investigation of Crosslinking Agent at Antibody Modified Substrate for Parallel Measurement of Intermolecular Interaction

山梨大[○](M2)大竹 真央, 浮田 芳昭

University of Yamanashi., [○]Mao Otake, Yoshiaki Ukita

E-mail: yukita@yamanashi.ac.jp

1. 緒言

我々が以前に発表した分子間相互作用並列測定法は、抗体修飾ガラス基板に複数配置したマイクロビーズと遠心力を用いて単一分子間相互作用測定のスループット向上を試みたものである[1]。一方、分子同士の特異的な結合が形成されない反応系についても非特異的なビーズの吸着が見られるという問題があった。そこで、本稿ではガラス基板と固定する抗体分子の間にポリエチレングリコール(PEG)を導入することによるビーズの非特異的吸着におよぼす影響について検討を行った。

2. 実験

図1に測定原理の概略図を示す。NHS エステルを両端に持つ架橋剤を用いて、共有結合で抗マウス IgG 抗体を固定したガラス基板にマウス IgG 抗原分子を加えて反応させた後、抗体を共有結合で固定化したポリスチレンビーズを加えた。比重を調整した溶媒で満たし基板を回転させビーズに遠心力を引張力として作用させた。回転速度が増加すると結合部の分子に作用する引張力が大きくなり、ビーズが基板から分離する。このときの引張力をビーズの吸着力とした。引張力を徐々に大きくして、基板に残ったビーズを数えることで、ビーズの吸着力分布を得た。

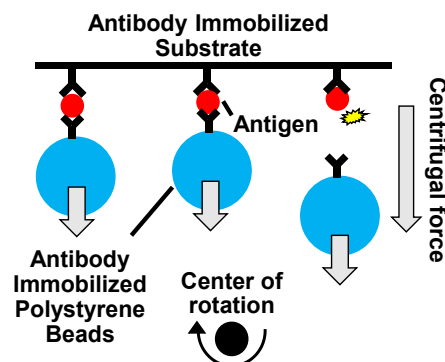


Figure.1 Schematic illustration of the analysis principle

3. 結果・考察

架橋剤を利用し抗体分子を固定した基板と架橋剤を用いずに抗体を固定した基板でビーズの吸着力を測定した。図2に作成したビーズ吸着力分布図を示す。架橋剤を用いた基板よりも架橋剤を用いない基板のほうが、0-10 pNの弱い力で吸着しているビーズが2倍以上多い。これは、基板表面に構築された PEG のブラシ構造によって、抗原分子やビーズの非特異的結合が減少したためであると考えられる。また、架橋剤を用いた基板のみに見られる 50-60 pN でのピークは、基板表面に抗体分子を導入したことによって現れていることから、抗原抗体反応による特異的結合の結合力を示していると期待される。

以上より、ガラス基板への抗体修飾に PEG 化架橋剤を使用することで抗原やビーズの非特異的吸着を低減することが可能であると考えられる。講演では、グルタルアルデヒドで基板に抗体を修飾した場合との比較を行い、更なる検討を行い、結果を報告する。

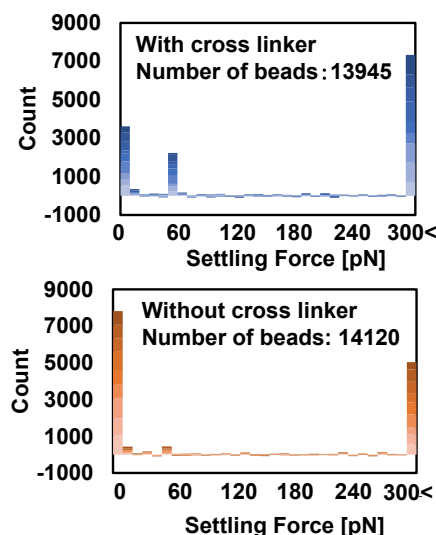


Figure.2 Adsorption Force spectrum

参考文献

1. 大竹真央 浮田芳昭, 「ハイスループットな単一分子の力学解析法の提案」, 『第 65 回応用物理学会春季学術講演会 講演予稿集』, (2018), 11-506.