

■ 低分子物質の計測

低分子物質の計測の一例をご紹介します。競合阻害法を利用すれば、質量の大きい物質の計測に置き換えることができます。この方法により、低分子物質であるビオチンの計測が可能となりました。

1. プロトコル

センサー：30MHz ツインセンサー
 流速：50 μ L/min
 サンプル量：100 μ L
 送液バッファー：PBS
 サンプル：ビオチン（分子量：244）

直接競合阻害法（図1：ビオチン計測の模式図）

(1) ブランク計測

ストレプトアビジンを固定化したセンサーに、ビオチン結合BSAをインジェクションします。得られた反応量をブランク値とします。

(2) 競合阻害計測

(1)と同濃度のビオチン結合BSAに、ビオチン単体を予め混合してインジェクションします。ストレプトアビジンに対し、ビオチンとビオチン結合BSAで競合が起こり、ビオチン結合BSAの結合量が(1)より減少します。

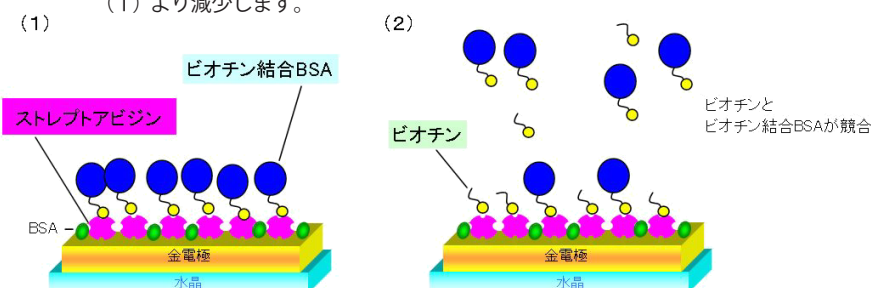


図1：ビオチン計測の模式図

2. 反応波形

ビオチン結合BSAをインジェクションしたブランク波形（図2左）、及び1 μ g/mLのビオチンが共存した波形（図2右）となります。いずれも1% DMSOがサンプル溶液に含まれているため、組成の変化により一度周波数が低下します。その後送液バッファーに切り替わると、結合した分の反応量が各々得られます。ブランク波形と比較し、反応量が低下していることが分かります。

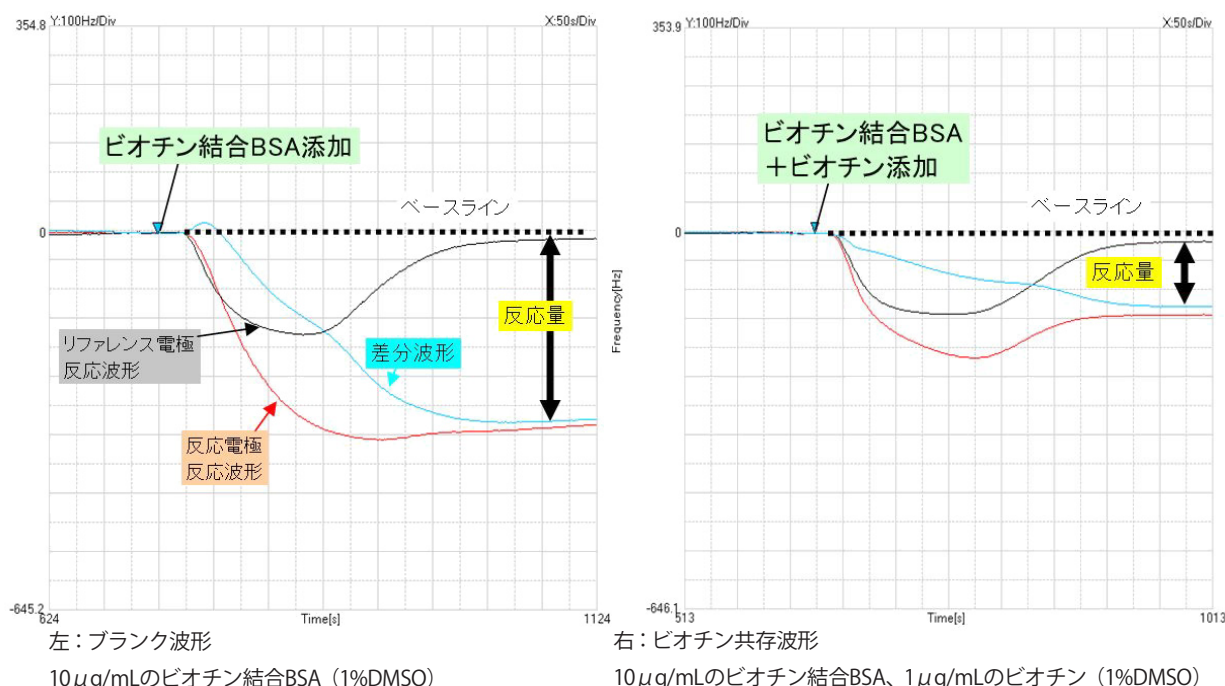


図2：計測波形

■ 低分子物質の計測

3. 濃度依存性

表1に従い、ビオチン濃度を1ng/mL, 10ng/mL, 100ng/mL, 1μg/mL, 10μg/mLとして競合阻害計測を行い、Logit変換後検量曲線を作成しました。

ビオチン結合BSA	ビオチン	DMSO濃度
10μg/mL	-	1%
10μg/mL	1ng/mL	1%
10μg/mL	10ng/mL	1%
10μg/mL	100ng/mL	1%
10μg/mL	1μg/mL	1%
10μg/mL	10μg/mL	1%

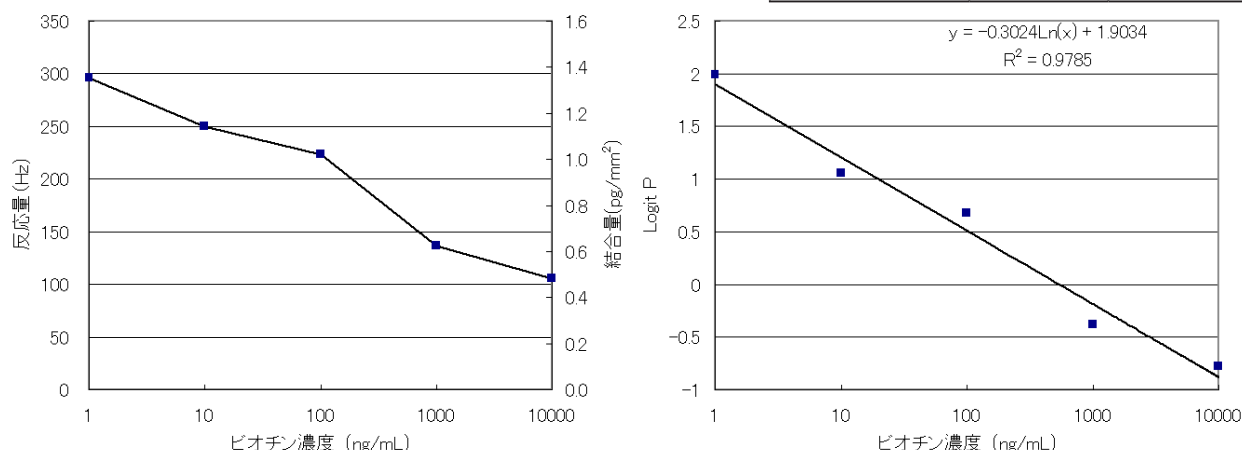


図3：ビオチン検量曲線

左：ビオチン濃度に対する反応量 (Hz) 及び結合量 (pg/mm²)

右：Logit変換後の検量曲線

4. 抗菌剤 X の計測

分子量約300の抗菌剤の一種を実計測例として示します。10ng/mLと低濃度でも定量可能であることが示されました。

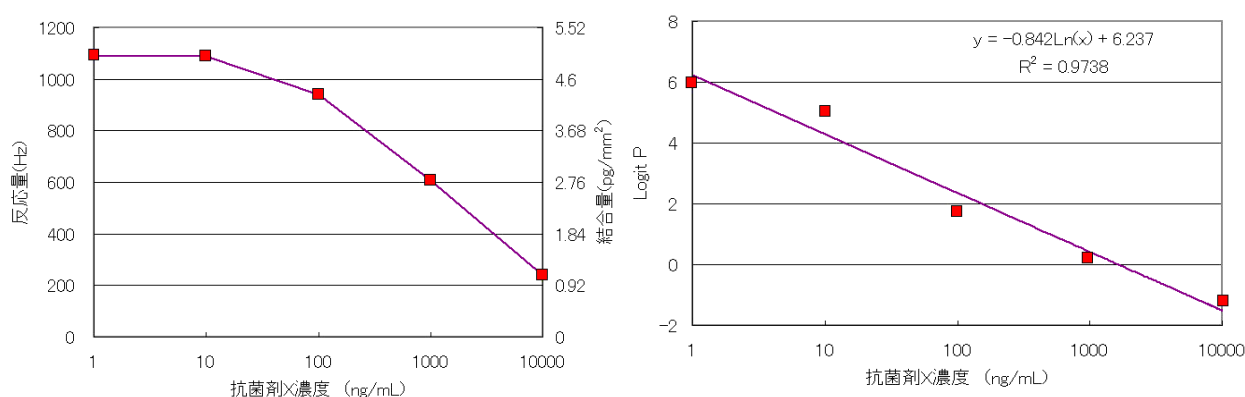


図4：抗菌剤Xの検量曲線

左：抗菌剤Xの濃度に対する反応量 (Hz) 及び結合量 (pg/mm²)

右：Logit変換後の検量曲線

5. 用語解説

- 競合阻害法 質量の大きい物質の計測に置き換えることができる方法で、目的の物質と競合物質を共存させたときのシグナル低下率から定量する方法です。
- Logit変換 シグモイド (S字) 曲線を直線化するための変換方法です。
- 抗菌剤 細菌の増殖を抑制し、死滅させる物質です。