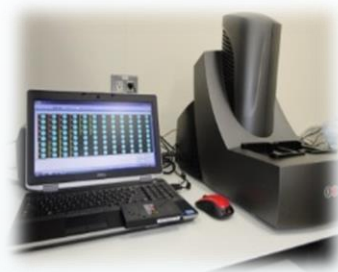


第3号：高感度マルチ免疫アッセイ特集

はじめに

九州プロサーチLLP（KPSL）では、酵素免疫測定法（ELISA法）や電気化学発光法（ECL法）を用いて種々のバイオマーカー測定を受託しております。KPSL設立以降、200項目以上のバイオマーカーの測定実績がございます。様々な測定機器を保有しており、吸光、蛍光、発光、電気化学発光測定を行うことができます。この中から、KPSL News vol.3 では電気化学発光法（ECL：Electrochemiluminescence法）についてご紹介いたします。



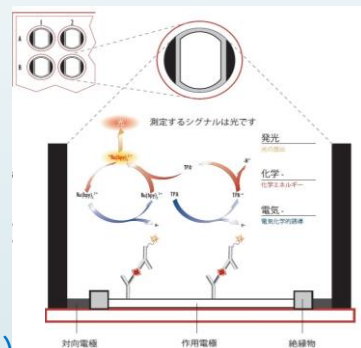
ECL法はメソスケールディスクバリー（MSD）社のMULTI-ARRAY™システムにより単項目または多項目を同時に定量できる技術です。ECL法はELISA法よりも高感度でダイナミックレンジが広く、少量のサンプルで測定をしたい場合に有用です。本測定法はバイオ医薬品の開発における免疫原性評価試験などにも用いられています。

今回は、V-Plex kit を用いた複数のマーカーを同時に測定する技術をご紹介します。複数のタンパクを同時定量することで、探索的なマルチ解析が可能です。

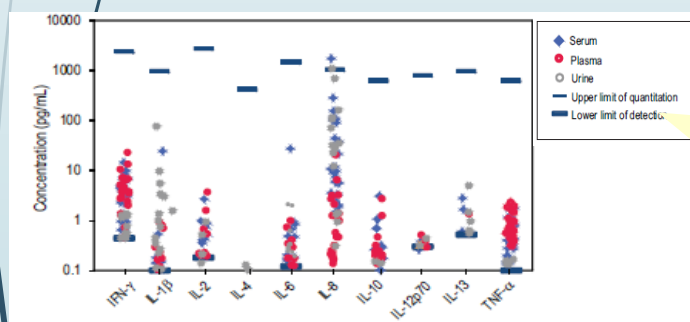
高感度マルチ免疫アッセイの原理と特徴

基本的な原理はELISA法と同様で、検出時にECLを用います。本測定機器は、同一ウェル内で生じる発光を別々に検出することができます。

1. プレートに固相化したCapture 抗体と分析試料 が反応
2. SULFO-TAG標識抗体（ルテニウム錯体）を添加し、2次反応
3. プレート底面に電気を流し、化学発光強度を測定



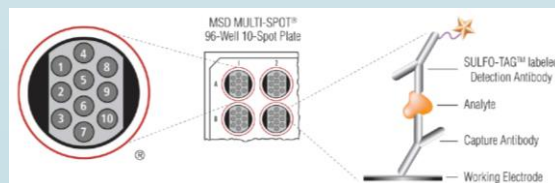
特徴①：ELISA法よりも高感度でダイナミックレンジが広い



ヒト血清、血漿、尿をサイトカイン10項目同時定量した場合、健常者レベルの低濃度領域まで定量可能

特徴②：複数のバイオマーカーを同時に定量可能

96穴プレートの1ウェルそれぞれに10個のスポットがあり、各スポットに異なる抗体が固相化されているため一度に最大10項目が測定できます。



特徴③：少量のサンプルで測定可能

通常のELISA法で10項目をそれぞれ測定する場合1000 uLほどが必要と予想されますが、本測定法では100 uL以下で測定可能です。貴重なサンプルでの測定にも有用です。

特徴④：高い再現性、安定した測定結果

測定項目

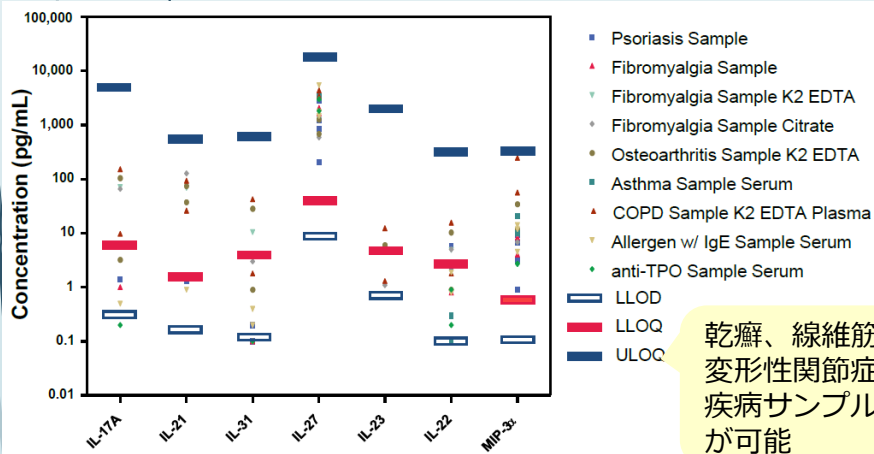
1つのPanelでAnalytes内の1項目から最大10項目までの同時定量が可能

Panel		Analytes
① Human Cytokines 30-plex	② Human Proinflammatory Panel	IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL12p70, IL-13, TNF- α
	③ Human Cytokine panel	GM-CSF, IL-5, IL-1 α , IL-7, IL-12/IL-23p40, IL-15, IL-16, IL-17A, TNF- β , VEGF-A
	④ Human Chemokine panel	Eotaxin, IP-10, MIP-1 β , MDC, Eotaxin-3, TARC, MIP-1 α , MCP-1,MCP-4, IL-8(HA*)
⑤ Human TH17 Panel		IL-17A, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, MIP-3 α
⑥ Human Angiogenesis Panel		VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, Flt-1/VEGFR-1, PlGF, FGF(basic), Tie-2
⑦ A β Peptide Panel		A β 38, A β 40, A β 42

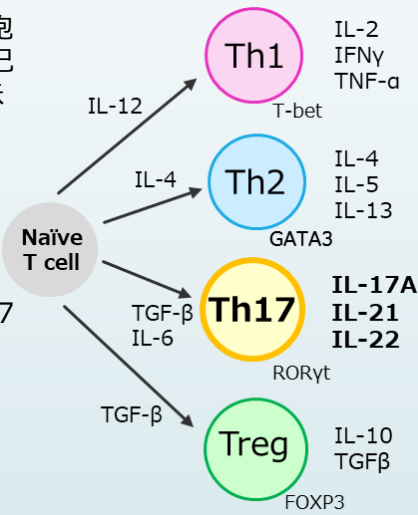
マルチ免疫アッセイの活用 Th17 Panel

従来より知られていたTh1細胞やTh2細胞とは異なる新たなCD4+T細胞サブセットとして、IL-17Aを産生するTh17細胞が2005年に実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）の発症に関与していることが動物実験により示されました。Th17細胞は、細菌感染に対する防御、関節リウマチや炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎やクローン病）などの自己免疫疾患へ関与していると考えられています。

測定項目⑤ Human Th17 Panel V-Plex kit では、Th17細胞が産生するIL-17A、IL-21、IL-22、その増殖や生存に必要とされ転写因子STAT3のリン酸化を介してROR γ t/RORC2発現を誘導するIL-23、Th17に対して抑制的に働くIL-27などを同時に測定することができます。



乾癬、線維筋痛症、変形性関節症などの疾病サンプルで定量が可能



Th17 Panel 測定項目

- IL-17A
- IL-21
- IL-22
- IL-23
- IL-27
- IL-31
- MIP-3a

KPSL News バックナンバー

Vol.1 プロテオミクス特集
～次世代定量プロテオミクス
『iMPAQT』分析始めました～

Vol.2 メタボロミクス特集
～網羅分析からターゲット分析へ～

ホームページからダウンロード
または配布希望をご連絡ください

【お問い合わせ先】

九州プロサーチ有責任事業組合
〒819-0388 福岡県福岡市西区九大新町4-1
TEL:092-805-3239 FAX:092-805-3239

MAIL: info@kpsl.jp

←URL: <https://kpsl.jp/>



KPSL
九州プロサーチLLP