

謎解き臨床化学検査 わかりにくい言葉・あやふやな事を明確に

－ 分析関連(ラテックス試薬) －

角田恭一 (富士フイルム和光純薬株式会社 臨床検査薬事業部 学術開発本部)

1. はじめに

抗原抗体反応を利用して目的のアナライトを測定する免疫測定法は、古くは寒天板での拡散沈降反応(オクタロニー・テスト)に始まり、免疫比濁法、ラテックス法、ラジオイムノアッセイ(RIA)、酵素免疫測定法など様々な原理に基づいて利用されている。図1に示すように測定方法によって測定が可能な範囲は様々であり、対象となる物質によって測定方法を選択する必要がある。

ラテックス試薬は、ラテックスの粒子担体に抗体或いは抗原を固相化し、試料中に含まれる抗原/抗体に結合して凝集を起こすことでその抗原/抗体を検出する試薬である。ラテックス試薬は試料と混合させるだけで測定できることから生化学汎用自動分析装置に適用できることが大きな特徴である。本稿ではラテックス試薬の反応原理およびラテックス試薬開発のポイントを中心に述べる。

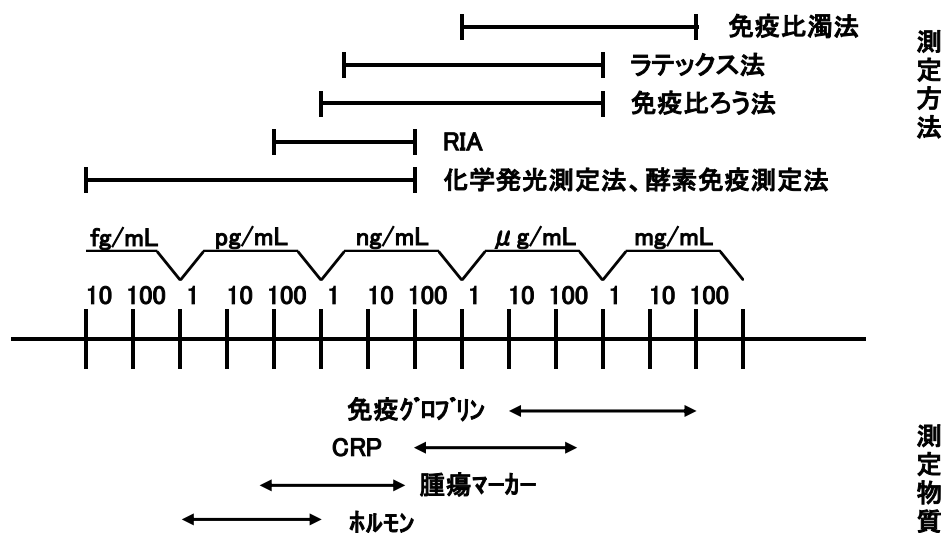


図1 測定物質に対する測定方法の選択

2. 反応原理

アナライトが抗原の場合、ラテックス粒子担体にアナライトに対する抗体を感作させたラテックス試薬は、試料と混合することで、試料中のアナライトとラテックスに感作され

た抗体が抗原抗体反応により結合し、凝集を引き起こす（図2）。抗体にはラテックス粒子が結合しているので通常の免疫比濁法に比べて凝集は増幅され、特に低値域の感度が増す。この凝集の度合いを測定することで試料中のアナライト濃度を算出することが可能となる。目的のアナライトが抗体の場合は、その抗体に対する抗原をラテックス粒子に感作させることで目的の抗体を測定することができる。生化学汎用自動分析装置に適用させた場合、第一反応として血清影響を回避させる添加物や増感剤を含んだ緩衝液（R1）と試料を混合し、その後、第二反応としてラテックス試薬（R2）を添加、混合することで生じる凝集を吸光度として測定する。

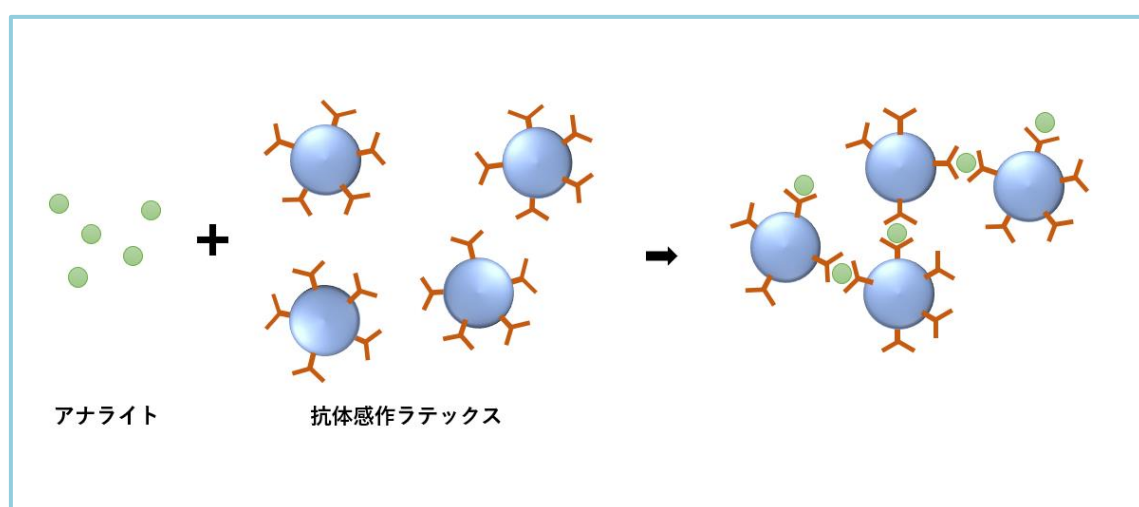


図2 ラテックス試薬の反応様式

### 3. ラテックス試薬開発のポイント

#### (1) 抗体の感作方法

ラテックス粒子担体には、抗体を感作させる方法によって物理吸着タイプと化学結合タイプの2種類がある。物理吸着タイプのラテックスは表面がスルホン基で覆われており、抗体をラテックス表面に疎水結合で吸着させる。抗体とラテックス粒子を混合するだけで吸着するため、特別な処理は不要で、且つ抗体結合量が多くなる利点がある。欠点としては、結合が可逆的であるため経時的に抗体が遊離し、感度低下を招くことがある。一方、化学結合タイプのラテックスは表面にカルボキシル基やアミノ基が点在しており、これらの官能基に縮合剤を用いて抗体のアミノ基やカルボキシル基を共有結合させる。抗体とラテックス表面が共有結合で結合しているため結合が不可逆的であり経時安定性に優れているが、感作させるための処理が必要で抗体結合量も物理吸着に比べると少ない。両者にはそれぞれ長所、短所があるため、必要となる試薬特性に合わせてラテックスを選択する。

## (2) 感度アップ、測定範囲の拡大

ラテックス試薬の感度を上げる方法として、R1 中に増感剤を添加する方法がある。増感剤としてはポリエチレングリコール (PEG) などのポリマーがよく知られており、これらのポリマーはラテックス凝集反応を促進し、感度が上昇する。一方、ポリマー濃度を高くしすぎるとブランクが上昇してしまい、試料中のアナライトを正確に測れなくなる。

また、図3に示すように使用するラテックスの粒子サイズを変えることで反応曲線も変化する<sup>1)</sup>。小さな粒径のラテックス粒子を用いると高値域の伸びが増し、大きな粒径のラテックス粒子を用いると低値域の感度が増大する。これらの異なる粒子を混合することで両者の長所を併せ持つ特性を得ることも可能である。

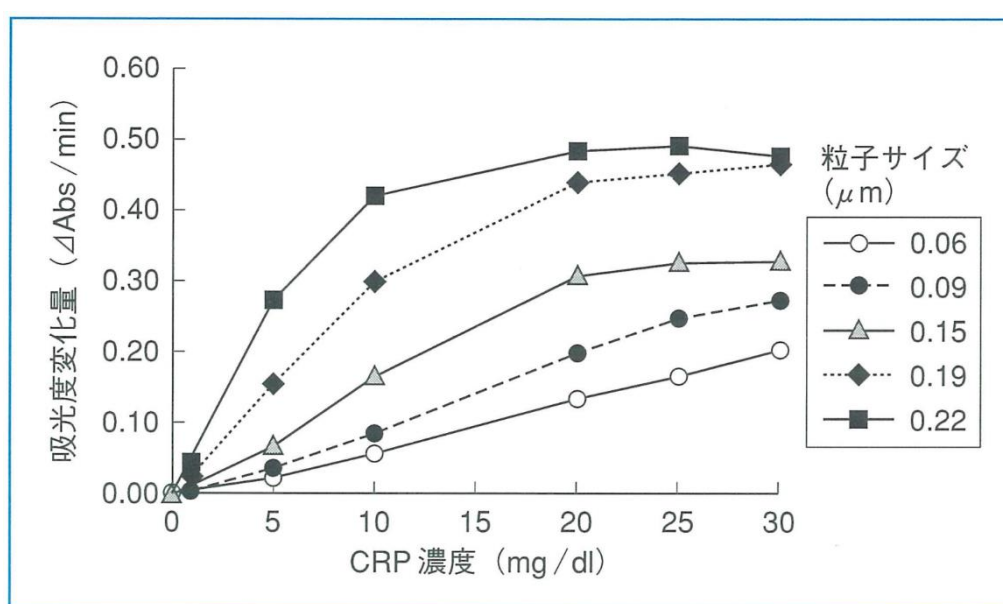


図3 ラテックス粒子サイズと反応曲線<sup>1)</sup>

## (3) 非特異反応抑制

B/F 分離のないホモニアスな反応系であるラテックス試薬は、血清などの影響を受けやすい傾向がある。その影響を抑えるために反応液中の塩濃度を最適化するなどの工夫が必要である。一般的にラテックス試薬自体は塩濃度が高いと自然凝集しやすいため、反応液に必要な添加物は全て R1 (緩衝液) に添加しておくのが望ましい。

また、非特異反応を引き起こす代表的なものに RF (リウマトイド因子) がある。RF は免疫グロブリンの Fc 部と親和性が高いことから、RF の影響を効果的に回避する方法として、使用する抗体はペプシン消化により Fc 部を除去した F(ab')<sub>2</sub> を使用することが多い (図4)。Whole 抗体に比べて F(ab')<sub>2</sub> を感作させた場合、Fc 部除去の工程が必要となり、また感度が低下しやすくなるが、RF の影響を顕著に低減することができる。

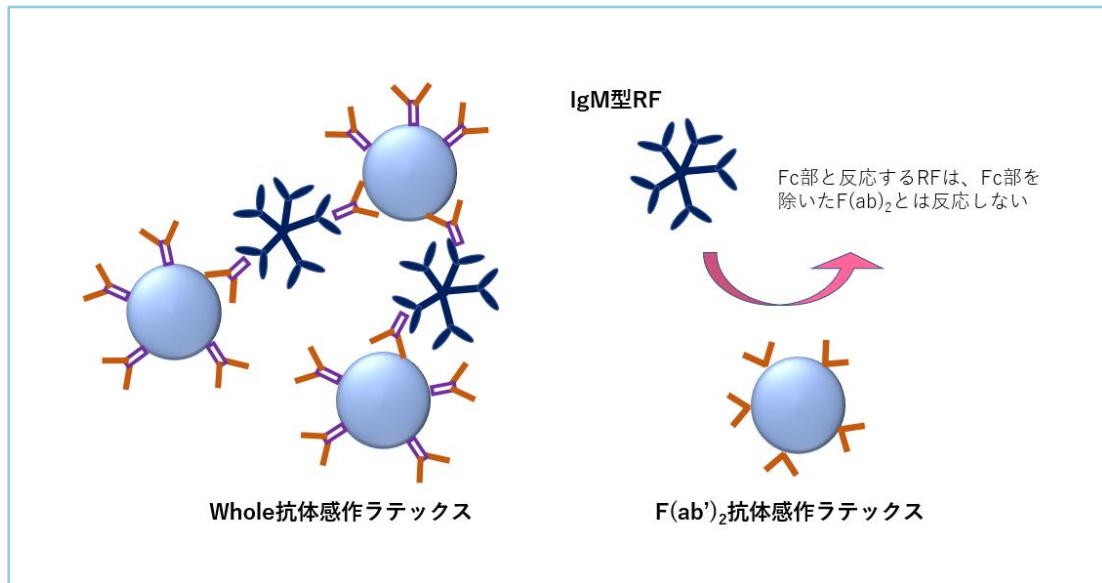


図4 RFの影響回避例

(4) プロゾーン現象

抗原抗体反応において、抗原過剰領域で反応が低下し、偽低値化することをプロゾーン現象という（図5）。ラテックス試薬ではラテックスに感作された抗体どうしが過剰に存在する抗原により凝集できなくなるため、プロゾーン現象を起こしやすい。プロゾーン現象を起こすかどうかは使用する抗体やラテックス粒径に依存する部分が多く、処方検討などで回避するのは困難である。

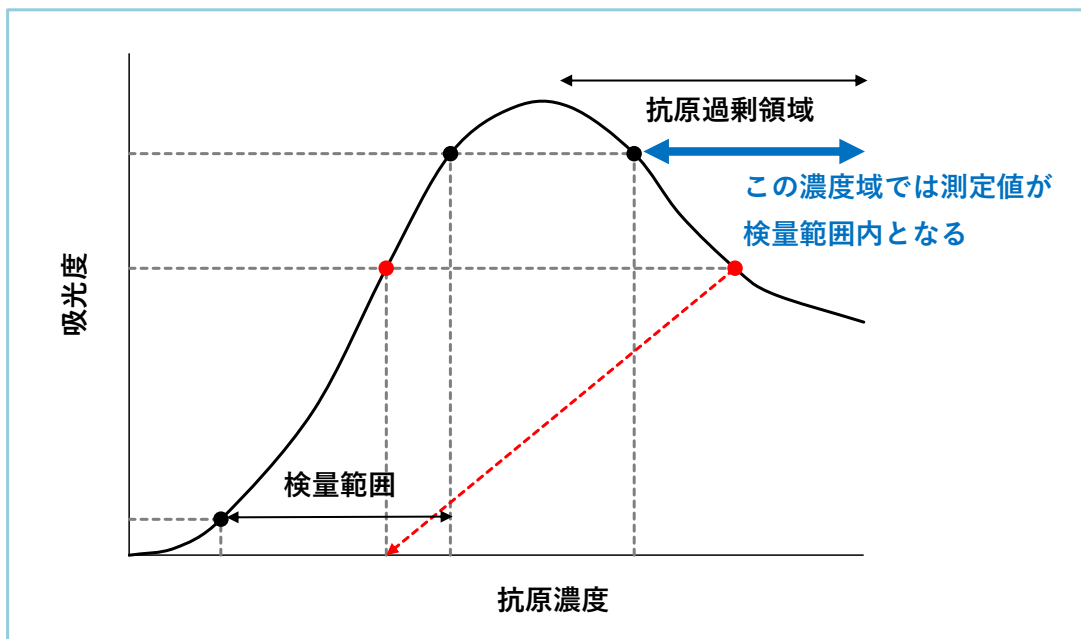


図5 抗原抗体反応における抗原濃度と吸光度の関係

プロゾーン現象により高濃度域で測定値が低く出る場合、そのタイムコースの形状からプロゾーンを引き起こしているか否かを判定することができる場合がある。各種自動分析装置にはタイムコースからプロゾーンを判定するパラメーター設定が可能であり、このプロゾーンチェック機構を利用することでプロゾーンによる偽低値化の見逃しを回避することが可能となる。

#### 4. おわりに

ラテックス試薬は古くから知られた原理に基づいたものであるが、生化学汎用自動分析装置に適用できることから、幅広く利用されるようになった。感度面では酵素免疫測定法などには及ばないが、測定時間が早く、試薬コストが安価であることから、今後さらに性能を向上させる開発が進み、普及していくことに期待したい。

#### 参考文献

- 1) 関根盛 ラテックス凝集法の高感度化 臨床検査 2003;47:13:1660-1664