

# バイオセパレーション用磁性粒子“Magnosphere”の開発

## Development of Magnetic Particles for Biomolecule Separation

上津原 朋広  
Tomohiro Uetsuhara

片寄 聡  
Satoshi Katayose

上野 勝  
Masaru Ueno

福田 哲夫  
Tetsuo Fukuta

田守 功二  
Koji Tamori

Filtration, centrifugation and column chromatography have been common methods for separation of biomolecules ( bioseparation ), however, these methods sometimes do not satisfy the researchers at the advanced biomedical science in terms of purity, selectivity, yield, concentration or simplicity of operations. Instead, authors designed and developed novel hydrophilic magnetic particles as solid support for bioseparation. These particles enable rapid separation with easy handling due to their superparamagnetic property. It became clear that increase of hydrophilicity of the surface of the particles is very effective not only in reduction of non-specific binding ( NSB ) but also in protection of activity of the probes immobilized onto the particles. These particles indicated extremely high selectivity in bioseparation processes, which was demonstrated by some practical examinations. Now, the novel hydrophilic magnetic particles “ Magnosphere ” developed in this study have the ability to overcome other methods for bioseparation.

### 1 緒言

細胞・タンパク質・核酸などの生体関連物質を取り扱う生化学者達にとって、これらの物質をいかにして試料中から高選択・高効率で分離するかという命題ほど、共通の関心事はないかもしれない。例えば、生化学実験でごく一般的に行われる試料の前処理や濃縮などといった操作の中にさえも、このような生体関連物質の選択的分離(バイオセパレーション)工程が含まれる。

当然ながら、ある特定の生体関連物質の構造や機能の解析に主眼をおく研究者にとっては、当該物質を純度良く分離・精製することが肝要である。これを怠れば、夾(きょう)雑物質の存在によりデータ解析が難解となったり、誤った解釈を導いたりする危険性が増すこととなる。タンパク質の網羅的解析(プロテオミクス)や、薬理活性物質のスクリーニングなどがその端的な例である。

また、特定の生体関連物質を選択的に分離・精製するという上記の工程には、一般に抗体や抗原などのプローブ

が用いられる。高純度な標的物質の分離を遂行するためには、これらプローブ自身もまた、これらを包含する細胞や血液などの中から、予め高い純度で分離・精製しておく必要がある。特に抗体や抗原が特殊であるときには、試薬メーカーによる供給が無いために、研究者自らがこの分離・精製操作を実施しなければならない場合が多々ある。

このように、バイオセパレーションは生化学分野の研究において広範に使用されており、また近年は研究対象がますます微量化・複雑化する傾向にあるため、より高度な分離能力が必要とされてきている。

従来、バイオセパレーションには、ろ過・遠心分離・カラムクロマトグラフィーなどの処方が用いられてきた。しかしながら、これらには幾つかの短所があった。例えば、①標的物質の物理化学的な性質(大きさ、比重、極性など)を利用して分離するために、得られる生体関連物質の純度が低くなるという問題、②分離が不十分なフラクションを統合せずに廃棄する場合、収量が低くなるという問題、③大

量の溶出液などを用いて分離するため、得られる標的物質の濃度が低くなるという問題、④さらには、この濃度の問題を解消するために、限外ろ過などを利用して回収した試料を濃縮する場合、操作が多段階で煩雑となるうえ、容器の移し替えなどで標的物質の一部が失われたり、回収時の容量・濃度が一定とならなかったり、あるいは汚染物質の混入機会が増えたりするという問題があった。なお、プローブとの親和力を利用したアフィニティーカラムクロマトグラフィーの場合には、高純度なバイオセパレーションが可能であるが、上記同様、回収物質の濃度が低くなるという問題があった。

一方、バイオセパレーションには、磁性粒子を固相担体とした処方も広く利用されている。一般的に用いられる磁性粒子は粒径が数 $\mu\text{m}$ 程度のものであり、表面にはプローブを固定化するための官能基(例えばカルボキシル基)が導入されている。他の分離処方と比較して、磁性粒子ではバイオセパレーションを迅速かつ簡便に行えるうえ、操作の自動化も可能というメリットがある。しかしながら、従来の磁性粒子には、粒子表面へ夾雑物質が非特異的に吸着する傾向が強く、得られる生体関連物質の純度が低くなるという問題があった。また、タンパク質の溶出工程などで使用する酸性溶液下では、粒子表面に露出した酸化鉄などが溶出し、粒子が崩壊するという問題などもあった。

著者らは、これまでも多種多様な磁性粒子を開発してきた<sup>1)</sup>。その中でも代表的なものは、体外診断用のIMMUTEX-MAGシリーズである。診断用途における信頼性および繰り返し製造再現性の高さが評価され、現在、数多くの自動免疫診断装置に採用されている。JSR製磁性粒子は、ポリマーコアの上に超常磁性体層が設けられ、その上をポリマーシェルが完全に覆うような構造をとっている(図1)。

このような粒子構造は磁性体層が表面に露出していないため、耐酸性に優れるという特長をもつ。また、超常磁性

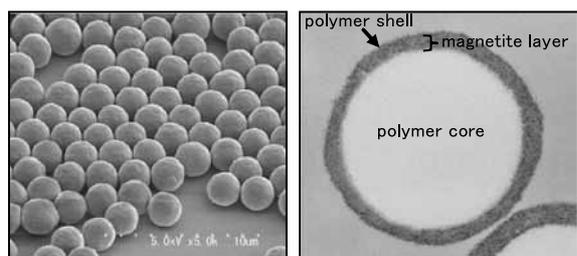


Fig. 1 SEM image (left) and TEM image (right: cross section) of JSR magnetic particles.

を有するため、磁石による効率の良い分離が可能であるばかりではなく、残留磁化が無いために、再分散性に優れるという特長をもつ。

体外診断用の磁性粒子の場合、標的物質を捕捉後、これを定量評価することに主眼がおかれている。粒子上に捕捉された標的物質は、さらに酵素などで標識された2次プローブによって検出される。従って、粒子表面に多少の非特異的な吸着物質が存在しても、標的物質の定量には大きな影響は生じない。これに対し、本論文で取り上げるバイオセパレーション用の磁性粒子の場合、標的物質を高純度で捕捉・分離することに主眼がおかれている。従って、粒子表面における夾雑物質の非特異的な吸着を最小限に抑える必要がある。

以上の背景のもと、著者らは、迅速かつ高純度なバイオセパレーションが遂行可能な新規磁性粒子の開発を行った。まず、従来粒子への夾雑物質の非特異的な吸着は、粒子表面の疎水性に起因するものと仮説をたてた。次に、従来品より高い親水性を有する磁性粒子を新たに設計し、試作した。続いて、これら粒子のバイオセパレーション用途における性能を評価し、親水性との関連について検証した。

## 2 実験

### 2.1 磁性粒子の作製と磁性粒子表面の親水性に関する評価

粒子表面へ高い親水性を付与することに重点をおいて、3種類の粒子を試作した(磁性粒子A~C)。磁性粒子の構造は体外診断用に開発したIMMUTEX-MAG MAG2303とほぼ同等であるが、ポリマーシェル部分の組成のみ、より親水的なものへと変更した。試作品3点およびMAG2303のポリマーシェル部分は、いずれもメタアクリレート系モノマーを主成分とした共重合体で構成されるが、非イオン性の親水基の種類や量を変更することにより、表面特性に差異が出るよう工夫した。試作品の表面官能基はカルボキシル基であり、粒径はいずれも $3\mu\text{m}$ となるように重合した。以後の性能評価では、MAG2303を対照粒子として使用した。本論文ではMAG2303を便宜的に「磁性粒子D」とした。

試作粒子表面の親水性を定量的に評価するため、これら粒子に対する水の接触角を以下の手順で測定した。スライドガラス上に粒子分散液を塗布後、これを乾燥させた。続いて、この乾燥粒子層に対して液滴1  $8\mu\text{L}$ の水を滴下した。接触角の測定は滴下150msec後に実施した。

## 2.2 磁性粒子のスクリーニングのための評価

### 2.2.1 タンパク質の非特異的吸着の程度

磁性粒子に対するタンパク質の非特異的吸着の程度についての評価は、以下の手順で行った。磁性粒子0.5 mgをJurkat細胞の破碎液(30 $\mu$ L; 100 $\mu$ g-protein)と混合し、1時間振とうさせた後、粒子を20mM HEPES(pH 7.9)/0.1mM EDTA/10%Glycerol/0.1%NP-40/500mM KCl(HEGN液)にて洗浄。その後、この粒子を抽出液(0.5%SDS)で処理し、その抽出液中に含まれるタンパク質を電気泳動-銀染色にて検出した。

### 2.2.2 標的タンパク質群20Sプロテアソームの特異的分離

抗20Sプロテアソーム $\alpha$ 6抗体(BIOMOL社製PW8100; マウス)を化学結合した磁性粒子0.5mgをJurkat細胞破碎液(30 $\mu$ L; 100 $\mu$ g-protein)と混合し、1時間振とうさせた後、粒子をHEGN液にて洗浄。その後、この粒子を抽出液(0.5%SDS)で処理し、その抽出液中に含まれるタンパク質を電気泳動-銀染色にて検出した。特定タンパク質検出のためのウェスタンブロットは、上記と同様の処方で免疫沈降物を電気泳動後、メンブレンに転写し、検出抗体および化学発光基質を用いて行った。ウェスタンブロットでは、検出抗体として、抗20Sプロテアソーム $\alpha$ 5/ $\alpha$ 7/ $\beta$ 1,  $\beta$ 5/ $\beta$ 5i/ $\beta$ 7抗体(BIOMOL社製PW8155; ウサギ)を使用した。

### 2.3 磁性粒子Aを用いた応用評価

#### 2.3.1 標的タンパク質 $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)の特異的分離

評価試料には、ヒト肝癌由来のHepG2細胞の破碎液(135 $\mu$ g-protein/test)、あるいはAFPを添加した正常ヒト血清(5ng-AFP/test)を用いた。抗ヒトAFP抗体(日本バイオテスト社製; ウサギ)を化学結合した磁性粒子A(0.5 mg)をこの評価試料と混合し、1時間振とうさせた後、粒子をHEGN液にて洗浄。その後、この粒子を抽出液(0.5%SDS)で処理し、その抽出液中に含まれるタンパク質を電気泳動-蛍光染色(Sypro Orange)にて検出した。

#### 2.3.2 FLAG<sup>®</sup>タグを利用した標的タンパク質の特異的分離

Jurkat細胞の破碎液(100 $\mu$ g-protein)にFLAG<sup>®</sup>タグ融合BAR(1 $\mu$ g)を添加したものを試料とした。抗FLAG(R)抗体(Clone M2)を結合した磁性粒子A(1mg)とこの試料とを混合後30分間振とうし、続いてHEGN液で洗浄、抽出液で抽出した。抽出液としては、0.1M Glycine-HClと0.5%SDSの2種類を検討した。抽出物は、電気泳動-銀

染色にて検出した。

### 2.3.3 細胞の選択的分離

抗Ep-CAM抗体を結合させた磁性粒子A(1mg)を、対象細胞の分散液と混合し、細胞を分離した。磁性粒子により分離された細胞の数は、定量PCRにより計測した。

### 2.3.4 抗体のアフィニティ精製

ヒト血清を1%添加したクエン酸緩衝液(pH5)200 $\mu$ Lに対して、Protein Gを化学結合した磁性粒子A(1mg)を加え、30分間振とうした。続いて、粒子をクエン酸緩衝液(pH5)で洗浄後、抽出液としてクエン酸緩衝液(pH2)20 $\mu$ Lを用い、粒子上の物質を抽出した。抽出物は透析後、電気泳動-銀染色にて検出した。

さらに、Protein G磁性粒子を抗体精製に繰り返し使用した時の影響について評価した。上記の精製工程で使用した磁性粒子を酸性のクエン酸緩衝液(pH2)1,000 $\mu$ Lで洗浄した後、クエン酸緩衝液(pH8)500 $\mu$ Lで平衡化した(再生処理)。このProtein G磁性粒子をヒト血清中からの抗体精製に再び使用した(繰り返し使用2回目)。Protein G粒子の再生はさらに繰り返し、10回目の使用まで評価した。

## 3 結果および考察

### 3.1 磁性粒子表面の親水性

親水性度を段階的に変量して試作した磁性粒子A~Cおよび疎水性の対照磁性粒子Dに対するタンパク質の非特異的吸着の程度について評価した。試作した磁性粒子A~Cは、従来の磁性粒子Dと比較して有意に水の接触

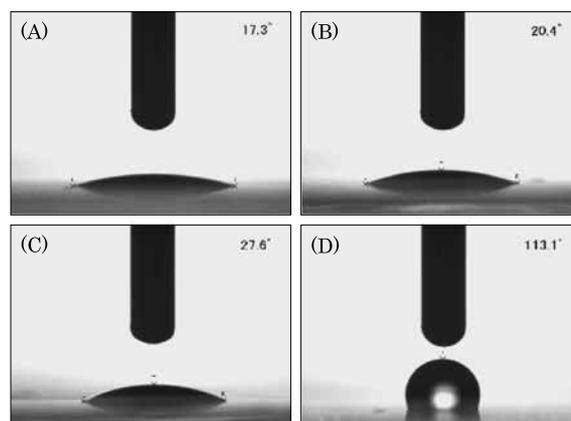


Fig. 2 Water contact angle at 150 msec after dropping on the dried particle layer. The names(A-D) are corresponded to the code names of magnetic particles mentioned above. (A)17°; (B)20°; (C)28°; (D)113°.

角が低く、より親水的な表面を有することを確認した(親水性:A>B>C>>D)(図2)。

以下、これらの磁性粒子を用いて、各種の生化学的評価を行った。

なお、生化学評価に当たり、マイクロチューブ中の磁性粒子A~Dの分離操作は、市販の磁気スタンドにより1分程度で完了し、十分に迅速であった。

### 3.2 磁性粒子のスクリーニング

#### 3.2.1 タンパク質の非特異的な吸着の程度

まず、磁性粒子A~Dに対してプローブなどを一切固定化させない状態(裸粒子)で非特異的な吸着の評価を行った。またこれと並行して、磁性粒子A~Dに対して水溶性カルボジイミドを用いて正常マウスIgG(和光136-13721)を化学結合させた磁性粒子A'~D'を作製し、これらについても同様の評価を行った。

その結果、裸粒子の場合には、タンパク質の非特異的吸着の量はA<<B<C<Dの順に多くなった(図3)。この序列は、粒子表面の疎水性が増大する傾向と一致する。一方、正常マウスIgGを固定化した磁性粒子の場合、タンパク質の非特異的吸着の量は、上記の裸粒子の場合と比較して、全体的に少ない傾向がみられた。ただし、磁性粒子CおよびD'では、それでもなお非特異的吸着が多いことを示す明確なノイズバンドが確認された。

ここで、特に磁性粒子Dにおいて、裸粒子の場合より抗体を固定化した場合の方が非特異的吸着の量が低くなったが、これは、元来の疎水的な粒子表面が抗体に

よって覆われ、夾雑物質と粒子表面との間の疎水-疎水相互作用が軽減されたことに起因すると考えられる。この現象は、非特異的吸着の防止剤として広く用いられているブロッキング剤(スキムミルク、カゼイン、BSA、合成ブロッキング剤など)の効能と類似する。すなわちここでは、抗体自身が非特異的吸着のブロッキング剤として機能していると推定される。裏を返せば、磁性粒子Aの場合、このようなブロッキング剤を一切使用せずとも、夾雑物質の非特異的な吸着を最小限に抑えられるといえる。

#### 3.2.2 標的タンパク質群の特異的分離

磁性粒子A~Dを用いて、Jurkat細胞の破碎液中からの20Sプロテアソームの分離を試みた。ここで20Sプロテアソームとは、28個のサブユニットから成る酵素複合体であり<sup>2,3)</sup>、細胞内におけるユビキチン化タンパク質の分解に関与する<sup>4)</sup>。今回使用したプローブは、20Sプロテアソームのα6サブユニットのみを認識するモノクローナル抗体である。なお、抗体-抗原間に働く親和力などを用いてタンパク質群を分離する手法は、一般に免疫沈降(Immunoprecipitation; IP)と呼ばれる。

対照として、他社製磁性粒子E(粒径2.8μm)およびF(粒径1.0μm)についても同時評価した。

結果、磁性粒子Aを用いた場合、20~30kDa付近に、20Sプロテアソームを構成するサブユニット群と推定される複数のバンドが確認された(図4)。標的物質の捕捉量はA>B>C>>Dの順に減少し、それとは反対に、ノイズバンドの量はA<B<<C<Dの順に増大した。

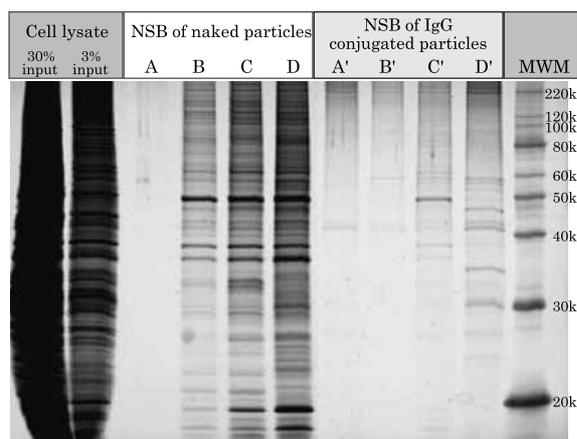


Fig. 3 SDS-PAGE of non-specific binding(NSB) of cell lysate to naked particles( lane: A-D )and normal mouse IgG conjugated particles( lane: A'-D' ) respectively. Darkness of each lane exhibits the extent of NSB.



Fig. 4 Results of immunoprecipitation (IP) of 20S proteasome. Magnetic particles E and F are the competitors'.

ここで、疎水性が増すに連れノイズが増大するのは、粒子表面と夾雑物質間の疎水-疎水相互作用が増すためであると推定される。一方、これと連動して標的物質の捕捉量が低下するのは、粒子表面の疎水性が起因して、粒子上に固定化した抗体の活性が損なわれるためと示唆される。おそらくは、抗体の3次元構造が変化し、抗原認識能が低下するのであろう。

なお、同時に評価した二つの他社製磁性粒子E、Fではノイズバンドばかりであり、標的物質の捕捉は確認されなかった。

次に、磁性粒子Aにより分離されたタンパク質群が、本当に20Sプロテアソームであるか、ウェスタンブロットにより確認した。

まず、検出抗体として抗20Sプロテアソーム $\alpha 6$ 抗体、すなわち、免疫沈降工程で使用したものと同一の抗体を用いてウェスタンブロットを行った(図5; WB①)。結果、銀染色でみられた32kDa付近のバンドが $\alpha 6$ サブユニットであり、磁性粒子Aにてこのサブユニットが効率よく分離されていることが確認された。

次に、検出抗体として抗20Sプロテアソーム $\alpha 5 / \alpha 7, \beta 1, \beta 5, \beta 5i, \beta 7$ 抗体を用いてウェスタンブロットを行った(図5; WB②)。結果、20~30kDa付近の複数のバンドが化学発光し、これらのバンドが20Sプロテアソームのサブユニット由来であることが確認された。

総合的に判断して、磁性粒子Aでは、20Sプロテアソームの $\alpha 6$ サブユニットのみを認識する抗体を用いて、28量

体である20Sプロテアソーム全体を免疫沈降することに成功したと判断される。さらに、この分離工程においては非特異的な吸着に由来するノイズバンドは極めて少なく、標的物質の高純度な分離が達成されていると判断される。

なお、対照とした他社製磁性粒子Eにおいては、非特異的な吸着が多いうえ、 $\alpha 6$ サブユニットもごく少量しか検出されなかった。

### 3.3 磁性粒子Aを用いた応用評価

バイオセパレーション用担体として磁性粒子をスクリーニングした結果、親水性の最も高い磁性粒子Aにおいて、非特異的な吸着が極めて低く、かつ標的タンパク質を高純度で分離可能であることが明らかとなった。

そこで、この磁性粒子Aについてさらに応用評価を実施した。具体的には、AFPの分離、タグ融合タンパク質の分離、細胞の分離、Protein Gを利用した抗体の精製である。

#### 3.3.1 $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)の分離

$\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)は、肝細胞癌などのマーカーとして広く知られている。抗AFP抗体を結合した磁性粒子Aを用いて、細胞破碎液または血清中に含まれるAFPを分離可能か評価した。

その結果、抗AFP抗体を結合した磁性粒子Aを用いることで、細胞破碎液試料(図6左)および血清試料(図6右)のいずれからでも、高純度でAFPを分離できることが明らかとなった(図6)。一方、同時評価した従来磁性粒子Dおよび他社製磁性粒子Eでは、非常に多くのノイズバンドがみ

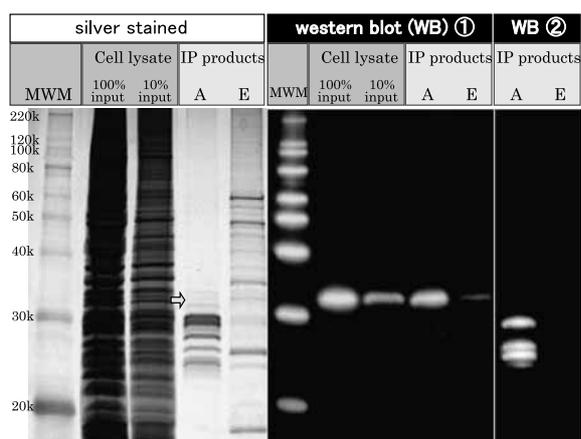


Fig. 5 Identification of the immunoprecipitated proteins. The point of the arrow shows the band of  $\alpha$  subunit of 20S proteasome.

WB ①:  $\alpha 6$  subunit was detected

WB ②:  $\alpha 5 / \alpha 7, \beta 1, \beta 5, \beta 5i, \beta 7$  subunits were detected

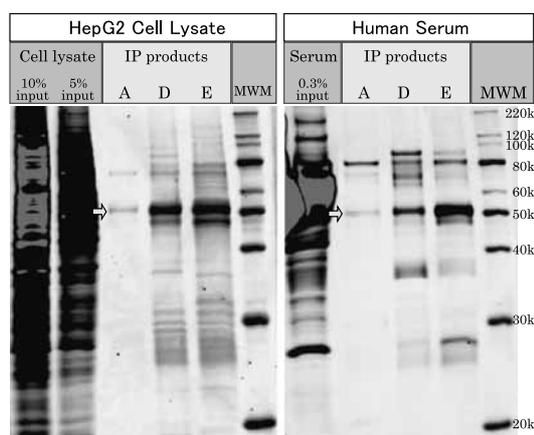


Fig. 6 Immunoprecipitation of  $\alpha$ -fetoprotein from both HepG2 Cell lysate (left) and human serum (right). Magnetic particle E is the competitor's. The points of the arrow show the band of  $\alpha$ -fetoprotein.

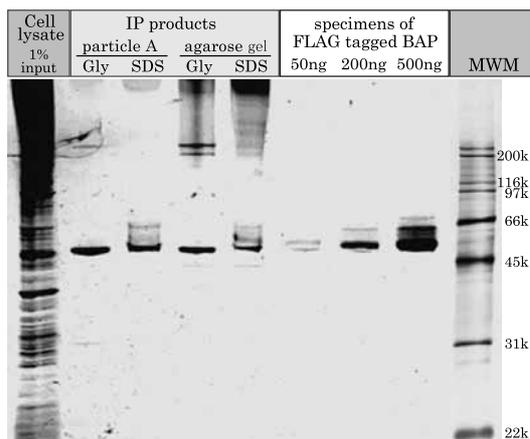


Fig. 7 Immunoprecipitation of tagged protein. FLAG<sup>®</sup> tagged protein spiked in Jurkat cell lysate was purified by anti-FLAG<sup>®</sup> antibody conjugated magnetic particle A or commercial agarose gel. Gly: Glycine-HCl elution, SDS: 0.5% SDS elution

られた。

### 3.3.2 FLAG<sup>®</sup>タグを利用した標的タンパク質の分離

SIGMA-ALDRICH社によって開発されたFLAG<sup>®</sup>タグは、組換え融合タンパク質の精製に有効である<sup>5)</sup>。抗FLAG<sup>®</sup>抗体を結合した磁性粒子Aを用いて、試料中に含まれるFLAG<sup>®</sup>タグが導入された細菌由来アルカリホスファターゼ(BAP)を分離可能か評価した。対照として、他社製の抗FLAG<sup>®</sup>抗体結合アガロースゲルも同時評価した。

その結果、他社製のアガロースゲルの場合、特に高分子量側に多くの非特異的な吸着がみられた(図7)。これに対し、磁性粒子Aでは、アガロースより高純度かつ高収率で標的とするFLAG<sup>®</sup>タグ融合BAPを分離でき、性能面で上回ることが確認された。

### 3.3.3 細胞の選択的分離

癌マーカーの候補であるEp-CAM(Epithelial Cell Adhesion Molecule)は多くの癌化した上皮細胞上で強発現している<sup>6-8)</sup>。抗Ep-CAM抗体を結合した磁性粒子Aを用いて、細胞の選択的分離が可能か検討した。HT-29細胞(結腸腺癌)あるいはJurkat細胞(T細胞リンパ肉腫)の分散液へ粒子を混合し、試料中からの細胞の分離を試みた。

その結果、HT-29細胞の場合、使用した41,900個の細胞のうち41,400個(98.8%)の細胞が分離・回収された(図8左)。一方、Ep-CAMを発現していないJurkat細胞の場合、使用した16,000個の細胞のうち、わずか3個

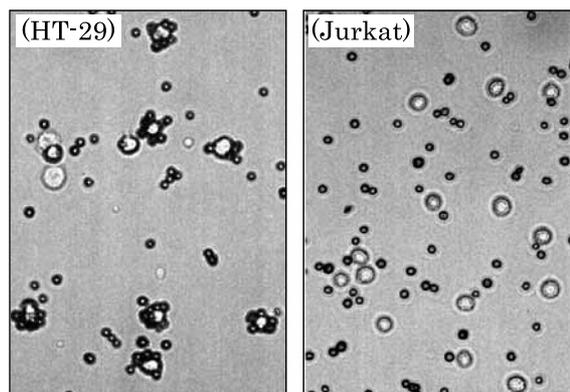


Fig. 8 Images of cell isolation processes in case of HT-29 cell( left ), and Jurkat cell( right ). The smaller particle is anti Ep-CAM antibody immobilized magnetic particle, and the larger particles are cells.

(0.02%)の細胞のみが非特異的に回収された(図8右)。これら細胞が混在する試料を用いた場合であっても、HT-29細胞のみを選択的に分離することが可能であると考えられる。

### 3.3.4 抗体のアフィニティ精製

Protein Gは、IgG抗体のFc部位と特異的に結合する性質を有するタンパク質である。このProtein Gを結合した磁性粒子Aを用いて、ヒト血清からの抗体の精製が可能か検証した。対照として、Protein Gが結合された状態で市販されている他社製磁性粒子X(粒径2.8μm)およびY(粒径1~4μm)も同時評価した。

また、Protein G磁性粒子を抗体精製に繰り返し使用した時の影響についても確認した。抗体精製工程で使用したProtein G磁性粒子を再生処理した後、再び、上記と同様の処方でヒト血清からの抗体精製を実施した。繰り返し使用5回目と10回目の抽出物について、電気泳動による分析を行った。

その結果、Protein G結合磁性粒子Aを用いることにより、高純度な抗体精製が行えることが明らかとなった(図9; 粒子A"1")。また、この抗体精製に使用した磁性粒子Aは、再生して使用することが可能であり、少なくとも10回の繰り返し使用を行っても、抗体精製の純度・収量は安定しており、性能劣化がみられないことが確認された(図9; 粒子A"5"および"10")。一方、他社製磁性粒子XおよびYの場合には、非特異的な吸着が多いただけでなく、繰り返し再生使用することにより抗体の捕捉量が大幅に低下することが明らかとなった。

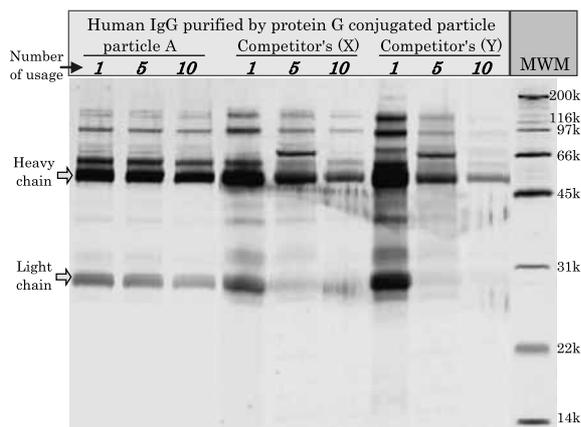


Fig. 9 Purification of IgG from human serum using protein G conjugated particle. Reusability of the particles was also evaluated.

#### 4 結論

粒子への夾雑物質の非特異的な吸着は、粒子表面の疎水特性と密接な関わりがあることから、その主たる推進力は疎水-疎水相互作用であることが強く示唆された。また、粒子表面へ非イオン性の親水基を適切に導入することにより、この非特異的な吸着を大幅に抑制できることが明らかとなった。

また、表面親水性の最も優れた磁性粒子Aにおいては、夾雑物質の非特異的な吸着が極めて少ないだけでなく、標的タンパク質の高純度・高収率な分離に適用可能であることが確認された。また、粒子の疎水性が高い場合には、粒子上に固定化した抗体は、その活性を失う傾向にあると示唆された。

さらに、磁性粒子Aは、タグ融合タンパク質の分離や、細胞の分離、抗体の精製にも適用できることが明らかとなった。分離精度は、他社製粒子を上回るものであった。

以上の結果より、磁性粒子Aは、従来のバイオセパレーション処方で見られた低純度・低収率・低濃度などの問題を解決した理想的な固相担体であると結論づけられる。また、分離操作は磁石を用いて迅速・簡便で実施することができるという特長があり、さらには、自動装置を用いたバイオセパレーションにも適応することが可能である。

#### 5 おわりに

磁性粒子Aは、核酸の分離や、イムノアッセイ用途での使用にも最適であることが確認されている。特に、核酸増幅反応を阻害しないことが確認されており、粒子上に捕捉した核酸をそのまま増幅反応に持ち込めるといったメリットがある。

また、既にJSRは磁性粒子Aの技術をベースとした新規のバイオセパレーション用研究試薬Magnosphere™ MS 300シリーズを商品化し、コスモ・バイオ株式会社からの販売を開始している。今後、さらに種々の表面修飾粒子を上市していく予定である。

#### 発表先

HUPO 6<sup>th</sup> Annual World Congress (2007.10.9 韓国ソウル)にて発表。

(Molecular & Cellular Proteomics, (2007) p. 237.)

#### 文献

- 1) 日方幹雄:臨床検査, 50, 1343 (2006)
- 2) J. Lowe, D. Stock, B. Jap, P. Zwickl, W. Baumeister, R. Huber: Science, 268, 533 (1995)
- 3) M. Groll, L. Ditzel, J. Lowe, D. Stock, M. Bochtler, H. D. Bartunik, R. Huber: Nature, 386, 463 (1997)
- 4) D. Voges, P. Zwickl, W. Baumeister: Annual Review of Biochemistry, 68, 1015 (1999)
- 5) B. L. Brizzard, R. G. Chubet, D. L. Vizard: BioTechniques, 16, 730 (1994)
- 6) A. Armstrong, S. L. Eck: Cancer Biology and Therapy, 2, 320 (2003)
- 7) H. Abe, M. Kuroki, T. Imakiire, Y. Yamauchi, H. Yamada, H. Arakawa, M. Kuroki: Journal of Immunological Methods, 270, 227 (2002)
- 8) J. M. Chong, D. W. Speicher: Journal of Biological Chemistry, 276, 5804 (2001)