

磁気マーカーを用いた洗浄工程不要の免疫検査法の開発

入江康太*、秋吉一輝*、吉田敬*、笹山瑛由*、圓福敬二*、原美里**
(九州大学*、多摩川精機**)

Wash Free Detection of Biological Targets Utilizing Magnetic Markers

K. Irie*, K. Akiyoshi*, T. Yoshida*, T. Sasayama*, K. Enpuku*, and M. Hara**
(Kyushu University*, Tamagawa Seiki**)

免疫検査とは血液検査などの医療診断において、疾患由来の蛋白質や病原菌などのバイオ物質（抗原）の有無や量を測定する方法である。近年、磁気マーカーと磁気センサを用いた磁気的免疫検査法の開発研究がなされている。本手法では、溶液中における磁気粒子のブラウン緩和現象を用いることにより、バイオ物質に結合した磁気マーカー(Bound)と未結合の磁気マーカー(Free)を磁気的に識別できる。このため、従来の光学的手法で必要とされてきた B/F 分離のための洗浄工程を省くことが出来、迅速な検査が可能となる。

Fig. 1 に磁気的免疫検査法の原理を示す。本研究では、バイオ物質として C-反応性蛋白質(CRP)を用いた。CRP は体内で組織破壊や炎症が起こった際に増加するため、疾患の検査や経過観察などに用いられている蛋白質である。CRP の検出のため、CRP 固定用の C2 抗体付きポリマービーズ(Spherotech)、及び、検出用の C6cc 抗体付き FG ビーズ（多摩川精機）を用いた。CRP、磁気マーカー、及びポリマービーズを試料溶液に投入して 1 時間反応させた。反応後には、Fig. 1 に示す様に、CRP は固定用のポリマービーズに固定化され、これに磁気マーカーが結合する。溶液中には未結合マーカーも共存する。

結合マーカーのブラウン緩和時間 τ_B はポリマービーズの直径(3.3 μm)で決まり、 $\tau_{BB}=13\text{ s}$ となる。一方、磁気マーカーの流体力学的直径は $d_H=160\text{ nm}$ であり、未結合マーカーの緩和時間は $\tau_{BF}=1.6\text{ ms}$ となる。この緩和時間の差を利用して、結合 / 未結合マーカーを磁気緩和測定法により磁気的に識別した。実験では、最初に試料溶液に励起磁界を印加して試料を磁化した。その後、励起磁界をゼロとしてから 3 s 後の磁気信号を測定した。この時点では、未結合マーカーの磁気緩和は完了しており、未結合マーカーからの磁気信号はゼロとなる。このため、結合マーカーからの磁気信号のみを測定できることになる。磁気信号は MR センサを用いて測定した。

Fig. 2 に CRP の検出結果を示す。図の横軸は CRP の濃度 n_{CRP} である。図の縦軸は MR センサの出力電圧 $V(n_{\text{CRP}})$ の測定結果である。なお、CRP が無い場合の Blank signal $V(n_{\text{CRP}}=0)$ を差し引いている。図に示す様に、センサ出力は CRP の濃度とともに増加し、両者には良い相関が得られた。最小の検出濃度は 0.1 ng/mL となった。この結果は、洗浄工程無しで CRP の検出が可能であることを示しており、本手法の有効性が示された。

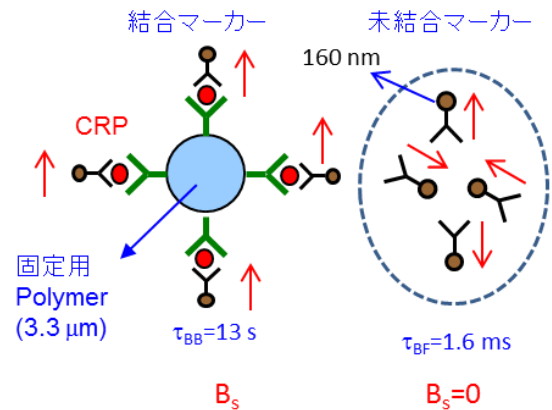


Fig.1 Wash free detection of biological targets using magnetic markers. Bound and free markers can be differentiated by using Brownian relaxation.

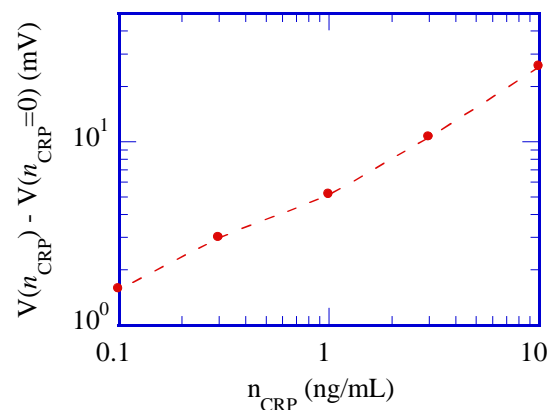


Fig.2 Wash free detection of CRP. Signal measured with MR sensor is shown when concentration of CRP is changed from 0.1 to 10 ng/mL.