

磁気マーカーのクラスタ形成を利用した 洗浄工程不要の免疫検査法の開発

秋吉一輝、五藤仁哉、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 Cluster Formation of Magnetic Markers

K. Akiyoshi, J. Goto, T. Yoshida, T. Sasayama, K. Enpuku, M. Hara*

(Kyushu University, Tamagawa Seiki*)

はじめに

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体などのバイオ物質（抗原）の有無や量を測定する方法である。磁気マーカーを用いた免疫検査法では、ブラウン磁気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 markers）と未結合マーカー（Free markers）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いた迅速な検査が可能となる。今回、磁気マーカーとバイオ物質の結合により磁気マーカーのクラスタを形成させる手法を導入し、このクラスタを用いた洗浄工程不要の検査法を開発した。

実験方法

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）を用いており、磁気マーカーは C6cc 抗体付き FG ビーズと C2 抗体付き FG ビーズ（多摩川精機）を用いた。CRP 及び 2 種類の磁気マーカーを溶液中で 1 時間反応させることで、Fig. 1 に示すように、CRP を介して磁気マーカーがクラスタを形成する、これが結合マーカーとなる。なお、溶液中には結合していない磁気マーカー（Free markers）も共存する。

粒子のブラウン緩和時間 τ_B は粒子の直径により決まり、動的光散乱法により計測した結合マーカー（クラスタ）の直径は $d_{HB} > 1 \mu\text{m}$ であるため、緩和時間は $\tau_{BB} > 0.4 \text{ s}$ となる。一方、未結合マーカーの流体力学的直径は $d_{HF} = 160 \text{ nm}$ であり、緩和時間は $\tau_{BF} = 1.6 \text{ ms}$ となる。

この緩和時間の違いにより、 $f \gg 1/\tau_{BB}$ となる周波数の交流磁界を印加した場合には、結合マーカーからは磁気信号が発せられず、未結合マーカーからのみ信号が発せられる。従って、B/F 分離を磁気的に行うことが可能となる。実験では振幅 4 mT、周波数 330Hz の励起磁界を印加し、検出コイルにより検出した第三高調波（ $f = 990 \text{ Hz}$ ）を測定信号とした。

実験結果

Fig. 2 に CRP の検出結果を示す。図の横軸は CRP の濃度 ϕ_{CRP} である。図の縦軸は第三高調波信号の減少率 g を示す。ここで減少率 g は、CRP がいない状態の測定信号 $V_0(\phi_{\text{CRP}} = 0)$ から各 CRP 濃度の測定信号 $V(\phi_{\text{CRP}})$ を引いた値を V_0 で割った値である。図に示すように、減少率は CRP 濃度とともに増加し、両者には良い相関が得られた。最小の検出限界は 0.1 ng/mL となった。この結果は、洗浄工程なしで 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。

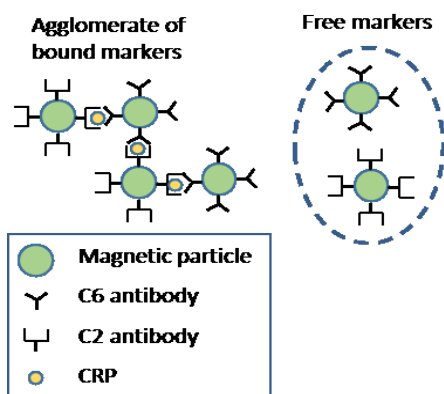


Fig. 1. Wash-free detection of biological targets using cluster formation of magnetic markers.

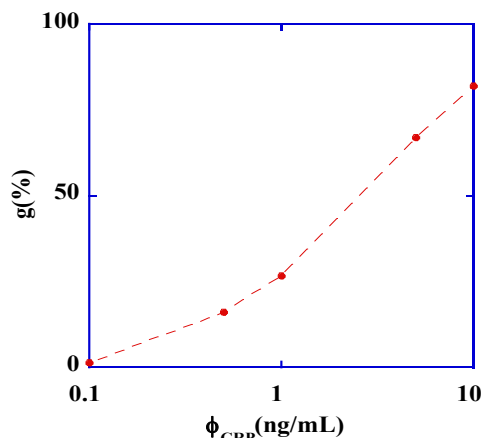


Fig. 2. Wash-free detection of CRP. Reduction of 3rd harmonic signal is shown when concentration of CRP is changed from 0.1 to 10 ng/mL.