

プロジェクトリーダー (企業責任者)	多摩川精機株式会社 バイオエレクトロニクス研究所長・技監 羽生 尚広
研究責任者	国立大学法人東京工業大学 助教 坂本 聡
参加機関	多摩川精機株式会社、国立大学法人東京工業大学、学校法人慶應義塾、株式会社コスミックコーポレーション、国立大学法人電気通信大学
研究開発課題	蛍光磁性ビーズを利用した高速高感度免疫測定システムの実用化開発

1. 研究開発の目的

蛍光磁性ビーズの磁気捕集と蛍光測定を組み合わせた高速・高感度免疫測定システムにより、数分以内に甲状腺刺激ホルモンおよびサイトメガロウイルス感染血症を診断する臨床検査試薬・装置を開発する(図1)。

FORMIA:

Fluorescent magnetic beads

Utilized immunoassay

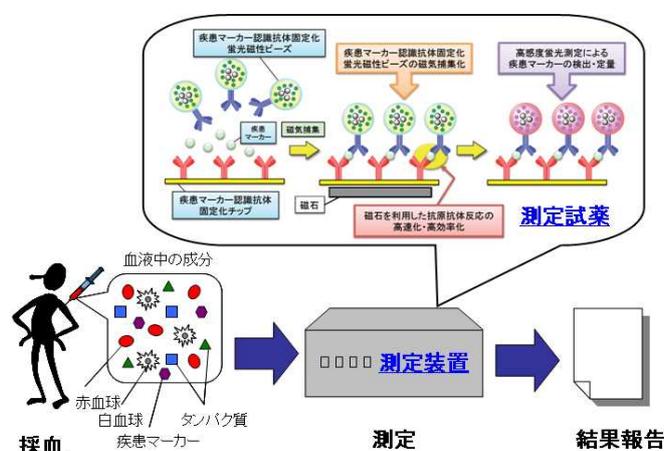


図1 本研究開発にて取り組む臨床検査の概念図

本プログラムにて開発する臨床検査試薬・装置の要求仕様は下表のとおりである。

測定項目	甲状腺刺激ホルモン(TSH)	CMV 抗原陽性好中球
検出感度	1.0 pg/mL	1 個/好中球 10 ⁵ 個
測定時間	10 分以内	1 時間以内(好中球回収+測定時間)
装置サイズ	卓上サイズ	卓上サイズ

2. 研究開発の概要

- ・FORMIA による甲状腺刺激ホルモン(TSH)の測定技術の確立: 測定試薬の保存安定性を確立すると共に、自動測定装置にて実検体を測定した場合においても要求仕様を満たすことを確認する。
- ・FORMIA によるサイトメガロウイルス(CMV)感染血症の検査技術の確立: 血液中から 10⁵ 個以上の好中球を 30 分以内に回収して濃縮する、陽性好中球 1 個に含まれる pp65 抗原を FORMIA によって迅速・高感度に測定する、という各測定手順を確立する。
- ・FORMIA を利用する自動測定装置の試作機の開発・評価: 少量検体に対応した試薬カートリッジ搭載の卓上サイズの装置を開発すると共に、磁性ビーズの磁気捕集/分散技術を開発する。

3. 研究開発の成果(平成 27 年度)

(1)FORMIA による CMV pp65 抗原測定系の開発

市販の CMV pp65 抗原認識抗体を用いて抗 CMV pp65 抗体固定化蛍光磁性ビーズを 5 種作製した。このとき、抗体種によって抗体固定化量が異なることがわかった。抗 CMV pp65 抗体固定化蛍光磁性ビーズを用いた FORMIA によって pp65 を検出できることを確認した。

(2)好中球濃縮技術の開発

前年度に決定した好中球回収抗体を磁性ビーズへ固定化し、抗体固定化磁性ビーズを用いた好中球の回収効率を検討し、5 種類の中での最適な抗体を決定した。CMV 強陽性患者 3 名から血液を採取し、前年度と合算で 4 名分を収集した。細胞数からタンパク量の検量線を作成し、最適な細胞数と抽出バッファ量の関係を決定した。健常者の血液を用いて好中球を回収・濃縮したこのとき、希釈倍率及び至適ビーズ量を検討した。

(3)微小領域での磁性ビーズの捕集／分散技術の開発

予備実験とシミュレーションによりリング型の配線を複数重ねる新しい配線パターンの着想を得た(図 2)。このパターンは単純な直線パターンよりも広範囲の磁性粒子を集めることができ、また配線間をセンシングエリアとして利用することで配線の電流の切り替えで磁性粒子を複数回移動することが可能である。まず基板を作製し粒子径 $2.8\mu\text{m}$ の磁性粒子を用いて磁気洗浄が可能か確認した。合わせて画像処理による蛍光磁性粒子の検出プロトコルの開発も行った。さらに実際にセンシングエリア上にアビジンを固定化しビオチン付き蛍光磁性粒子を用いてアビジンの検出を試み成功(図 3)。この結果から開発した手法で生体物質検出が可能であることが見出された。

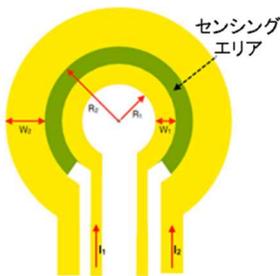


図2 リングパターン概念図

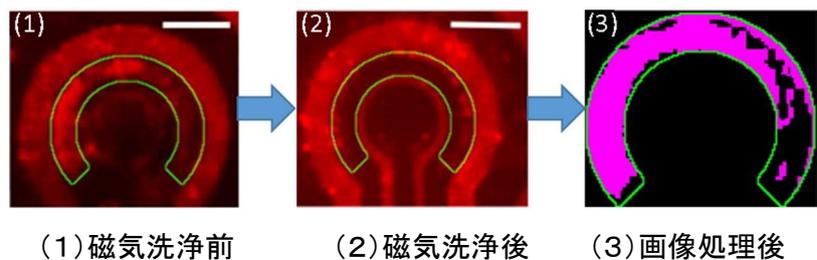


図3 蛍光磁性粒子の検出

(4)FORMIA による TSH の測定技術の確立および自動測定装置試作機の開発

測定試薬の長期保存安定性に関し、ビーズの種類を変更することで蛍光強度の低下を抑制できることがわかった。測定時の値のばらつきについては粒径の均一性の高いビーズを使用することでばらつきが抑えられた。蛍光検出器の高感度化に関し、目標感度である 1pg/ml の検出感度を達成した。また、蛍光検出器と試薬カートリッジに対応した自動測定装置試作機(2号機)を完成した(図 4)。



図4 自動測定装置試作機(2号機)外観