

診断薬用磁性粒子

Magnetic Beads for Diagnostics Use

筑波研究所 / 高分子研究所 / エマルジョン事業部 機能化学品部

Tsukuba Research Laboratories / Polymer Research Laboratories / Emulsion Division, Performance Chemicals Dept.

1 はじめに

臨床検査は、血液中の抗原などを測定して診断や治療の判断をするため医療現場では不可欠のものである。磁性粒子は、臨床検査の酵素免疫測定法という抗原などの生体微量成分の測定に用いられている。これらの成分の濃度は非常に微量であるため高感度な測定が必要である。中でも、がんのマーカーやホルモン類の測定には超高感度測定が可能な化学発光免疫測定法 (CLIA法) の診断薬の大半に磁性粒子が用いられている。また、血液中のウイルスの遺伝子検査でも磁性粒子が用いられている。磁性粒子は、これらの超高感度測定とハイスループット検査のキーマテリアルとなっている。

2 用途

CLIA法の代表的な測定手法としては、磁性粒子に結合した抗体と標識抗体で抗原を挟み込むサンドイッチ法を挙げることができる。標識抗体にはサンドイッチを形成した際、シグナルを発生させるための酵素が結合されており、発色基質あるいは化学発光基質を加えることにより検出が行われる(図1)。

CLIA法は非常に高感度な測定方法であり、理想的な

条件下であれば抗原分子量が10,000の場合、0.002pg/mLまでの測定が可能といわれている。実際には、種々の要因によって粒子に標識抗体が非特異的に吸着してバックグラウンドがあるため、市販検査試薬の検出限界は0.2pg/mL程度となっている。磁性粒子の利点を生かした自動測定装置は、プレートを利用した従来の装置に比較しておよそ2倍以上のスループットが得られている。

3 粒子構造と物性

図2に2.3μmの均一粒子径を持つ磁性粒子のSEM写真を示す。図3にJSRの磁性粒子の断面の写真を示す。

JSRの磁性粒子は、均一粒子径のポリマーコア粒子に超常磁性体層を導入した構造である。磁性粒子は、磁場によるB/F分離 (Bound/Free, 粒子表面に結合した蛋白と未反応蛋白を分ける。と磁場を取り除いた後の再分散が容易である必要から残留磁気のない超常磁性体を用いている。表面は、従来の診断薬用ラテックスで培った技術を基に、蛋白や核酸などを機能的に結合するのに適した設計にしている。

また、通常の平滑表面を持つ磁性粒子の他に蛋白や核酸の反応の場である表面積を大きくするために、表面を

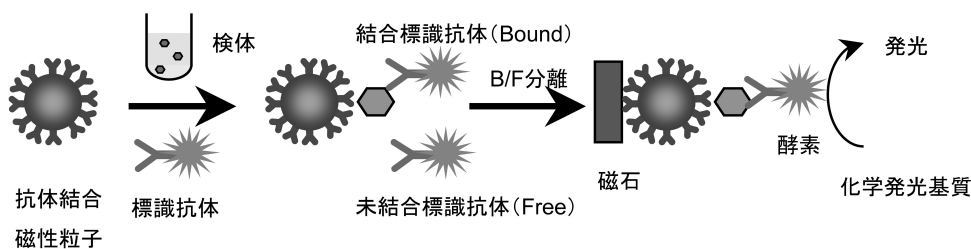


図1 化学発光免疫測定法

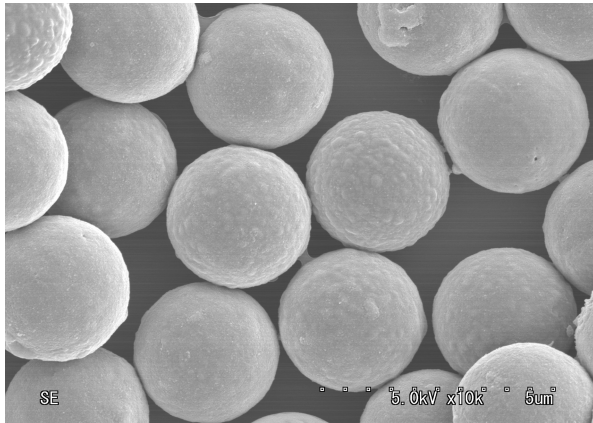


図2 標準タイプ(2.3μm)のSEM写真

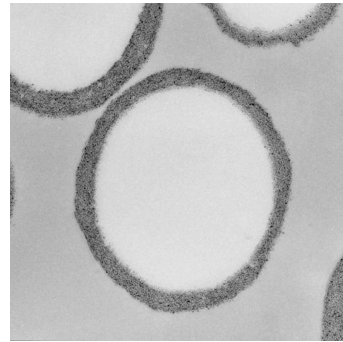


図3 磁性粒子の構造
粒子切片の電子顕微鏡写真

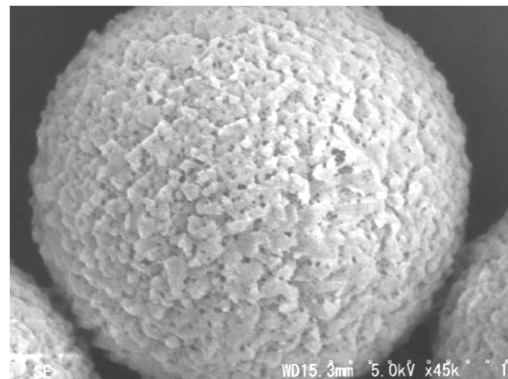


図4 平滑粒子(左)と凹凸粒子(右)

表1 JSR磁性粒子の特性値

	標準タイプ (1μm)	標準タイプ (2μm)	凸凹タイプ (2μm)
粒径(μm)	1.1	2.3	2.3
表面	平滑	平滑	凸凹
比表面積(m ² /g)	(3.4)calc.	(1.7)calc.	18
表面荷電量(μmol/g)	16	17	160
磁気分離時間(sec)	90	40	58
水との接触角(degree)*	120	120	42

* 磁性粒子の乾燥膜と水との接触角：磁性粒子表面の親・疎水性のレベルを示す。
蛋白の結合方法や使用方法によって使い分ける。

凸凹にした凹凸粒子も揃えている(図4)。

表1に1μmと2μmの磁性粒子の特性値を示す。

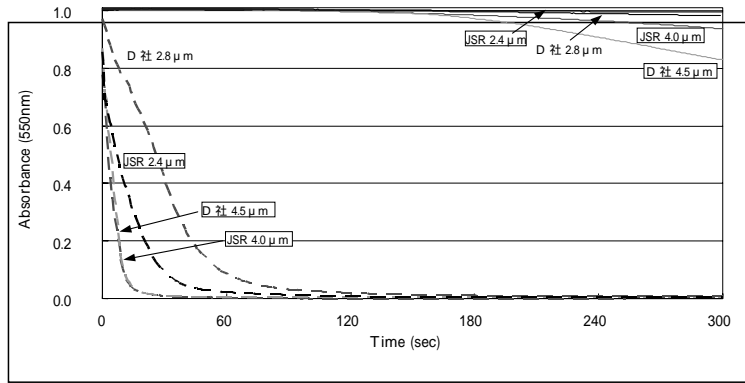
粒子径は、1.4μmまで変量可能で、ポリマーコア粒子の制御により高い磁性粒子の均一性を保たせている。比表面積は、ユーザーの使用に応じて選択ができるように平滑表面タイプと凸凹表面タイプを揃えている。粒子表面には、蛋白や核酸と結合する官能基として、カルボキシル基を導入しており、その量は表面荷電量で示されている。磁

気分離時間も使用条件に適合するよう磁性体の量を変量する事が可能である。

水との接触角は、粒子表面の親・疎水性の指標であり、蛋白を結合する方法や用途により選択できる。

4 実用特性

磁性粒子は、高感度な免疫測定のための分離用担体として使用されるための、①高い磁気分離特性 ②大きな蛋白



	JSR 4 μm	D社4.5 μm	JSR 2.4 μm	D社 2.8 μm
90%分離時間	10秒	10秒	28秒	55秒
5分自然沈降	7%	18%	0%	4%

図5 磁気分離特性と自然沈降性

表2 蛋白結合能

項目	他社品	JSR(凸凹タイプ)
粒径(μm)	2.7	2.3
IgG結合量(μg/mg)	23	51
ビオチン結合量(pmol/mg)*	1500	2500
ビオチン化抗体結合量(μg/mg)*	7	20

* アビシン結合粒子のビオチン結合能

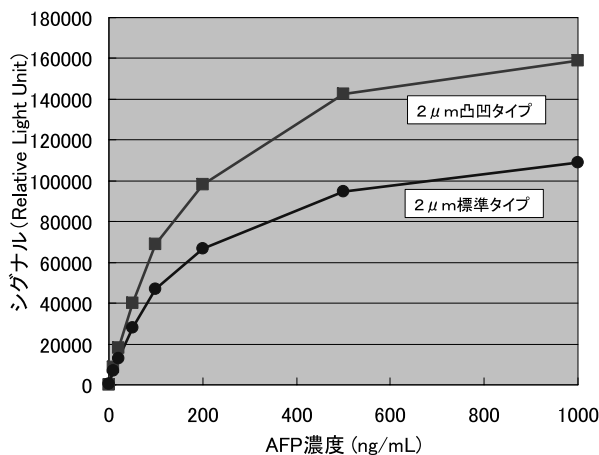


図6 AFPの測定例

結合能 ③高いS/N (Signal/Noise)比が実現できるように設計を施している。

4.1 磁気分離特性と自然沈降性

図5に種々の粒子径の磁気分離特性と自然沈降のデータを示す。他社品と比べて素早い磁気分離と耐自然沈降性(静置したときの沈降のしにくさ)のバランスが優れていることが分かる。

4.2 蛋白結合能

表2に代表的な抗体とアビジンの結合能を示す。蛋白の

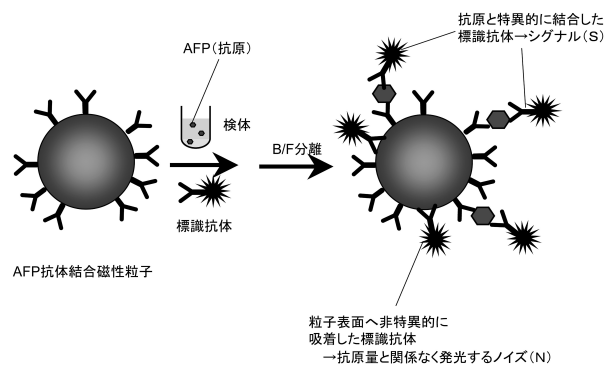


図7 標識抗体の吸着

結合は、粒子表面のカルボキシル基と蛋白のアミノ基によるペプチド結合で形成される。アビジンの結合量はアビジンと特異的に反応するビオチン及びビオチン化抗体の結合量で示している。

4.3 測定感度

代表的ながんマーカーであるAFPの測定例を図6に示す。高い測定感度を得る為には、まずシグナルが高いことが第一であるが、図7に示すようなバックグラウンドの主要な原因である標識抗体の非特異的な吸着を低く抑えること

も非常に重要である。同じシグナルが得られても、バックグラウンドが高いと測定感度が著しく低下するためである。JSRの磁性粒子では、粒子表面層のポリマーも従来のポリスチレンとは異なる特殊なアクリルポリマーを採用することにより非特異吸着を抑える設計を施している。

図1の抗体固相は抗原と結合する部位が外側に向けた理想的な配向状態の図であるが、実際の抗体はランダムに近い状態で粒子に結合していると考えられる。抗体をより理想的に配向して結合することを目指して、粒子表面の組成を工夫している。

5 まとめ

以上、JSRの磁性粒子IMMUTEX-MAGシリーズの概要を紹介した。実際には、更に磁性粒子特性の細部にわたる最適設計を行い、カスタマイズ製品として提供を開始している。最近では、臨床検査にとどまらず、ゲノム創薬、プロテオミクスと最先端のバイオ・メディカル研究分野でも磁性粒子に対するニーズが高まっている。今後も市場の要請に応えて、品質と品揃えの充実を図る予定である。本材料は、診断薬の更なる性能と品質の向上、バイオ・メディカル研究に大きく貢献できるものとする。

(文責：エマルジョン事業部 機能化学品部 日方幹雄)