現場の諸問題

レーザ磁気免疫測定法*

1. はじめに

ウイルス感染症の免疫検査法は、抗原検査と抗体検査に分けられる。検出の容易さから、現在は抗体検査が主流であるが、抗体は回復期に出現するため、早期診断は原理的に不可能であった。特に、AIDS の場合、体の免疫防御機能が侵されるため、感染後、数カ月あるいは数年間抗体が出来ないことが知られており、最近、サイレント AIDS として問題となっている。抗原検査は、ウイルス分離培養法と直接検出法がある。前者では、培養のための感受性細胞が必要で、培養日数を要する。後者では、EIA 等の非放射性検出方法は、検出感度がナノグラム程度であり、1 千万個/ml 以上のウイルスが存在しないと検出できないのが現状である。AIDS ウイルスの感染可能濃度、及び輸血感染で問題となっている非 A 非 B 肝炎ウイルスの血中濃度は 1000 個/ml 以下と推定されている。このような低濃度のウイルスを培養しないで直接検出することが要請されているが、現行のどの方法でも検出不可能である。本稿では、筆者の研究所で研究している、新しい原理に基づく、高感度なウイルス検出法について述べる。

2. レーザ磁気免疫測定法の原理と装置

レーザ磁気免疫測定法 (MIA) は、磁気標識したウイルスを磁界中で局所濃縮することによって、検出感度の

向上を図っている¹⁻³⁾。即ち、磁性微粒子に抗体を結合させた磁気標識試薬と、ウイルスとを抗原抗体反応させてウイルスを磁気標識し、未反応の磁気標識試薬を除いた後、磁性微粒子の量を図 1 に示す方法で光学的に測定する。磁気標識したウイルス浮遊液を検査容器に入れ、電磁石と磁極片で構成された傾斜磁界発生装置にセットする (図 1 (A))。電磁石を励磁すると、磁極片直下の水面の磁界が最も高いため磁気標識されたウイルスはこの部分に濃縮される。濃縮点の磁界が数 kG 以上になると、磁気標識されたウイルスに対する垂直上方向への磁気吸引力と液体の表面張力のバランスによって、水面が微視的に隆起する (図 1 (B))。この濃縮点に斜めからレーザ光を入射し、水面からの反射光をスクリーン上に受けると干渉縞が現われるので、干渉縞を計数することによってウイルスと結合した磁性微粒子の量を知ることが出来る。

図 2 は実験装置の概略図である。He-Ne レーザ (波長 632.8 nm) を入射角度 30 度で容器水面に入射し、スクリーン上に映った干渉縞を ITV カメラ、干渉画像処理装置 (C 2741, DVS 3000, 浜松ホトニクス製) を経由してデータを GP-IB でパソコン (PC 9801 VX) に送り、平滑化処理、フリンジ検出、画像データと演算結果の表示等の処理を行っている。傾斜磁界発生装置は電磁石、継鉄、磁極片で磁気回路が構成されている。

図 3 は本測定法 (MIA) の検量線の一例であって、平均粒径 80 nm (遠心沈降法による)、磁化 36.4 emu/g の既知の濃度のマグネタイト微粒子を純水を希釈し、本装置によって干渉縞直径とマグネタイト量の関係を調べたものである。本実験条件では 10^{-8} g の前後において 1 次の干渉縞直径とマグネタイト量の間にはほぼ直線関

図 1 レーザ磁気免疫測定法 (干渉型) の検出原理

* LASER MAGNETIC IMMUNOASSAY

図2 MIA 測定装置の概略図

係があった。干渉縞中心の光強度を測定すれば、ピコグラム以上の検出感度がある。

3. 応用例

塩化第一鉄と塩化第二鉄をデキストラン水溶液中でアルカリ共沈させる Molday らの方法を改良して、デキストランで被覆された粒径 11 nm、磁化 75 emu/g のマグネタイトを作製し、デキストラン表面にインフルエンザウイルスに対するウサギ免疫血清から単離した IgG を結合させて、磁気標識試薬を得た。種々の濃度のインフルエンザウイルス浮遊液にこの磁気標識試薬を加え、ウイルスを磁気標識した後、本測定法で測定したところ、10個程度のウイルス粒子を検出することが出来た。詳細は今秋の日本ウイルス学会で発表する予定⁵⁾である。

4. まとめ

レーザ磁気免疫測定法は、磁気濃縮効果のため従来の

検出法よりもはるかに高い感度 (1×10^{-18} g/ml) で微量のウイルスを検出できることが分かった。抗原検査法として、DNA プローブ診断法が注目されているが、MIA 法は DNA 法よりも検体調製処理が簡単であるため、感染直後の早期診断は勿論のこと、培養不能の未知のウイルスの発見にも役立てられると思われる。

文 献

- 1) 水谷裕迪, 水谷弘子, 藤原幸一: 新しく開発した免疫測定装置を用いたウイルスの検出実験, 第35回日本ウイルス学会総会講演予講集, No. 4011 (1987).
- 2) 藤原幸一, 水谷裕迪, 水谷弘子: レーザ磁気免疫測定法によるウイルスの高感度検出, 計測自動制御学会, 第3回生体生理工学シンポジウム論文集, 147, (1988).
- 3) 藤原幸一, 水谷裕迪, 水谷弘子: 磁性微粒子を用いた新しい免疫測定法, 電気学会マグネティクス研究会資料, MAG-89-2, 11 (1989).
- 4) R.S. Molday and D. Mackenzie: Immuno-specific ferromagnetic iron-dextran reagents for the labeling and magnetic separation of cells, J. Immunol. Methods, 52, 353 (1982).
- 5) 水谷裕迪, 水谷弘子, 藤原幸一, 柴田修一: レーザ磁気免疫測定法 (MIA) による微量ウイルス粒子の検出, 第37回日本ウイルス学会 (1989年, 10月31日-11月2日, 大阪) で発表予定.

(NTT光エレクトロニクス研 藤原幸一*)

* Koichi FUJIWARA: NTT Opto-Electronics Laboratories, 162 Shirakata Shirane, Tokai, Naka-gun, Ibaraki, 319-11

図3 干渉縞直径と磁性微粒子濃度の関係及び干渉縞波形の一例