磁気抵抗センサを用いた液相磁気免疫検査法の開発

榊原, 達人 九州大学大学院システム情報科学府電気電子工学専攻:修士課程

野口, 晃平

九州大学大学院システム情報科学府電気電子工学専攻 : 修士課程

吉田, 敬 九州大学大学院システム情報科学研究院電気システム工学部門:准教授

圓福, 敬二

九州大学大学院システム情報科学研究院電気システム工学部門 : 教授

https://doi.org/10.15017/1560522

出版情報:九州大学大学院システム情報科学紀要.20(1), pp.21-27, 2015-01-01.九州大学大学院シス テム情報科学研究院 バージョン: 権利関係:

磁気抵抗センサを用いた液相磁気免疫検査法の開発

榊原達人*・野口晃平*・吉田敬**・圓福敬二**

Magnetic Liquid-Phase Immunoassay using Magneto-Resistive Sensor Tatsuhito SAKAKIBARA*, Kohei NOGUCHI*, Takashi YOSHIDA** and Keiji ENPUKU**

(Received November 17, 2014)

Abstract: We have improved a liquid-phase immunoassay technique using Brownian relaxation of magnetic markers. In this method, we can magnetically distinguish bound markers from unbound (free) markers without using time consuming washing process for marker separation. In order to improve the performance of the present method, we first decreased the noise of the detection system using a magneto-resistive (MR) sensor. Employing the serially connected three MR sensors, peak-to-peak noise of the system was reduced to 26.9 pT, which was $1/\sqrt{3}$ less than the conventional one MR sensor system. Next, we developed a new method to perform the binding reaction between antigen and magnetic marker in the presence of magnetic field. In this case, magnetic moments of the bound markers were aligned due to this reaction field, and as a result, signal from the bound markers became large without causing agglomeration of free markers. Finally, we performed the liquid-phase detection of biotins. We could detect 2.5×10^5 biotins existing in 60 µl sample solution, indicating high sensitivity of the present method.

Keywords: Magnetic marker, Immunoassay, MR sensor, Brownian relaxation, Reaction field

1. はじめに

免疫検査とは種々のバイオ物質(抗原)の種類や量を測定 する検査法であり,病原菌・ウイルスの検査を行う血液検 査や有害物質の水質調査など多くの検査分野で用いられて いる.免疫検査では測定対象である抗原を検出する方法と して,抗原と抗体間の特異的な結合(抗原一抗体反応)を利 用している.この時,抗体は検出目的物である唯一の抗原 とのみ反応し,他の物質とは反応しない.抗原一抗体反応 を検出するため,抗体はマーカーと呼ばれる物質で標識さ れており,このマーカーからの信号をセンサで測定するこ とで免疫検査が行われる.

現在主流な免疫検査法としては、光を発するマーカー(光 学マーカー)を用いた光学的な手法があり、代表的なものと して ELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)¹⁾が 挙げられる.この手法は医療分野や食品分野など多岐にわ たって利用されているが、長い検査時間や複雑な検査工程 などが欠点として挙げられる.これは、この手法では抗原 に結合したマーカー(Bound marker)と未結合のマーカー (Free marker)を分離するための洗浄工程(B/F分離工程) を必要とするためである.

そこで近年注目を集めているのが磁気を発するマーカー (磁気マーカー)を用いた磁気的な手法^{2·14)}である.この手法 では磁気マーカーを用いて,磁気マーカーからの磁気信号 を磁気センサで測定することによって抗原の検出を行って いる.この磁気的手法では,磁気マーカーの溶液中でのブ ラウン緩和特性を利用することにより,結合マーカーと未

** 電気システム工学部門

結合マーカーを磁気的に識別することが可能であり,時間 と手間のかかる洗浄工程を省くことが出来る.これにより, 検査時間の短縮とシンプルな検査工程が可能になる.

我々はこれまで ¹⁰⁾,磁気マーカーと磁気抵抗 (Magneto-Resistive: MR)センサを使用した液相での免疫 検査法を開発してきた.本研究では、本手法の性能を高度 化するため、検査システムと検査手法の改善を行った.最 初に、検出システムの低雑音化に向けて3つのMRセンサ を直列に接続した測定システムを導入し、これによりシス テム雑音を $1/\sqrt{3}$ に低減した.次に、抗原と磁気マーカーの 結合反応を磁界中で行う、「磁界中結合反応法」と名付けた 新しい結合方法を開発した.この方法を用いることにより、 これまで問題 ⁵⁻¹であった未結合マーカーの凝集を大幅に 低減できることを示した.最後に、本手法を用いてビオチ ンの検出実験を行い、2.5×10⁵個/60 μlの検出感度を得た.

2. 液相磁気免疫検査法

本章では液相磁気免疫検査法で用いられる物理現象であ るブラウン磁気緩和とその現象を用いた測定法について説 明する.

現在用いられている免疫検査法は ELISA に代表される 光学的手法が主流であるが、これには測定の際に長い検査 時間を要することや手間がかかるといった問題点が存在す る.具体的には洗い工程と呼ばれる作業を1回の検査の中 で複数回行う必要がある.この洗い工程とは、目的物であ る抗原と結合した結合マーカーと抗原と反応せず残ったま まのマーカーである未結合マーカーとを分離するために必 要な作業であり、BF分離工程と呼ばれている.

この問題点を解決するため,開発されたのが洗い工程を 省略できる磁気マーカーを用いた液相での免疫検査法(液

平成 26 年 11 月 17 日受付

^{*} 電気電子工学専攻修士課程



Fig.1 Bound and free markers. Bound markers are fixed to a large polymer bead through the binding reaction between antigen and antibody.

相磁気免疫検査法)である.本測定法で用いられる結合マー カーと未結合マーカーの模式図を Fig.1 に示す.この検査 方法では溶液中における磁気的性質(ブラウン磁気緩和)を 用いる事で測定時に結合マーカーと未結合マーカーの磁気 的な識別が可能となる.このため,結合マーカーと未結合 マーカーの分離のために必要だった洗い工程を省略するこ とが可能になり,迅速かつシンプルな免疫検査法が実現で きる.

2.1 ブラウン磁気緩和

液体中において熱運動する媒質の分子の不規則な衝突に よって粒子の回転(ブラウン回転運動)が起こる.この時液 体中の粒子は直径が大きいものほど遅く,小さいものほど 速く回転をする特性がある.

磁気マーカーを含んだ溶液を磁化し全体の磁気モーメン トの向きを揃え、その後励磁磁界を取り除くと、ブラウン 回転運動によって1つ1つの磁気マーカーの磁気モーメン トの向きが徐々に不規則な方向となる.その結果、全体と して見た磁気信号は時間の経過とともに減衰していき、最 終的にこの磁気信号はゼロとなる.この磁気緩和の現象を ブラウン磁気緩和と呼ぶ.緩和するまでの時間はブラウン 緩和時間_{て8}と呼ばれ、次式で与えられる.

$$\tau_B = \frac{3\eta V}{k_B T} = \frac{\pi \eta}{2k_B T} d^3 \tag{1}$$

ここで, η: 溶液粘度, V: 粒子の体積, k_B: ボルツマ定数, T: 絶対温度, d: 粒子直径である.

本研究ではサンプル抗原としてビオチンを用いている. ビオチンは **Fig.1** に示す様に,粒子直径が約 3.3 µm の大 きなポリマービーズに固定されている(Spherotech).また, 磁気マーカーはポリマーコーティングされた磁気微粒子に 抗体としてストレプトアビジンが接合されたものを使用し ており,粒子直径は250 nm である(FGbeads,多摩川精機). よって、ポリマービーズと磁気マーカーの結合体である結 合マーカーは磁気マーカー単体である未結合マーカーに比 べて十分大きいことが分かる.(1)式から結合マーカーと未 結合マーカーのブラウン緩和時間はそれぞれ $\tau_{B,B}$ =13 sec, $\tau_{B,F}$ =7.5 msec となる¹⁴⁾.

本方法では、両マーカーの粒子直径の大きな差から生じ たブラウン緩和時間の差を利用し $\tau_{B,F}$ =7.5 msec より大き く、 $\tau_{B,B}$ =13 sec 以内の時間で試料からの磁気信号を測定 する. この場合には、未結合マーカーからの磁気信号はブ ラウン磁気緩和によりゼロとなり、結合マーカーの信号の みを測定することができる. つまり、結合マーカーと未結 合マーカーが混在した状態でもブラウン緩和時間の差を利 用することによって未結合マーカーが無いものとして結合 マーカーのみの信号を測定することができる.

2.2 液相磁気免疫検査法

液相での免疫検査の手順を以下に示す.本研究で開発した液相磁気免疫検査法の測定方法の模式図を Fig.2 に示す. 始めに試料作製として、ビオチンを固定化したポリマービーズを含んだ溶液と磁気マーカーを含んだ溶液を混合させ、時間*T_{re}* =90 min,温度 30℃の状態でビオチンとストレプトアビジンの結合反応(抗原一抗体反応)を促す.その後,結合マーカーと未結合マーカーを含んだ測定試料 60 µl は円盤状プレート上の直径 5 mm の反応セルに入れられる.

試料からの磁気信号の検出は, Fig.2 に示すように(i)励 起段階と(ii)測定段階の2段階にわけて測定を行う5.

(i)励起段階

始めに $B_{mag} = 40 \text{ mT}$ の強い永久磁石をセットし,円盤 状プレートを k_{mag} 回だけ回転させる.この強い励起磁界に よりそれぞれの磁気マーカー内の磁気モーメント mの向 きは励起磁界の向きに揃う.

(ii)測定段階

次にB_{mea} =1 mT の弱い永久磁石をセットし,円盤状プ レートを回転させて測定を行う.測定試料が磁石の上にあ る場合には, B_{mea} =1 mT で試料が磁気励起され,それぞ れの磁気マーカーの磁気モーメント **m**の向きが揃う.この 時,(i)段階とは違い,結合マーカーと未結合マーカーは励 起磁界により液相中でブラウン回転することにより磁気モ ーメント **m**が励起磁界の向きに揃う.

円盤状プレートが回転し測定試料に印加される磁界が B=0となった時、ブラウン磁気緩和により測定試料中の未 結合マーカーの信号は急激に減衰する.円盤状プレートの 回転速度は1周あたり6 sec であり、Fig.2(ii)に示されるよ うに磁気センサ(MR センサ)は永久磁石と反対側にあるの で、測定試料は磁気励起された後の $T_1=3$ sec 後に MR セ ンサで測定されることになる.従って先ほどのブラウン緩



Fig.2 Measurement method using two stages. (i)Excitation stage for magnetization, and (ii)Measurement stage for liquid phase detection of bound markers.

和時間において $\tau_{B,F} \ll T_1 \ll \tau_{B,B}$ の条件を満たすため,結合 マーカーの信号のみを測定することが可能となる.なお, 円盤状プレートを $k_{mea} = 36$ 回だけ回転させ,さらに磁化方 向を正方向と負方向で測定を行い,計 72回分の加算平均 を取ることにより,雑音低減を図っている.

3. MR センサシステム

本章では、まず液相磁気免疫検査法に用いられる磁気センサである MR センサシステムについて説明し、次に MR センサシステムの改良のために行った複数のセンサを導入する試みとその導入した結果を示す.

3.1 MR センサについて

バイオセンサとして用いられる磁気センサはホールセン サや超伝導技術を用いた SQUID (Superconducting Quantum Interference Device)センサ^{2,5:9)},そして本研究 でも使用している MR センサ^{2,10·14)}などがある. MR セン サの利点としてはセンサが安価で入手できることや常温で 手軽に使用できること,そして高感度であり非常に小さい 信号検出が必要な免疫検査でも利用可能であることなどが 挙げられる.また MR センサの中でも抵抗発生の原理の違 いから分類されており,OMR(Ordinary MR)や CMR(Colossal MR), AMR(Anisotropic MR), GMR(Giant MR)などがある.本システムでは AMR センサを使用して おり,磁性体の磁気異方性を利用し,異方性磁気抵抗効果 によって外部磁界の影響で抵抗が変化する仕組みとなって.



Fig.3 Block diagram of the AMR driving circuit with set/reset method (MR sensor system).

いる.

本研究で用いた MR センサの概略図を **Fig.3** に示す.本 システムに組み込まれている AMR センサは薄膜素子にパ ルス電流を印加する set/reset strap¹⁵⁾を付加しているもの を用いている(HMC1001, Honywell). この set/reset strap によりセンサを高感度に保つことができ,また set/reset strap に流す電流の周波数を用いて同期検波を可能とした.

Fig.3において、ブリッジ電圧は V_{brige} =8 V としている. この場合の信号磁界 B_s と信号電圧 V_s の変換係数は V_s/B_s =256 V/T となる. set/reset strap には set/reset 信号として peak-to-peak 値 5 V の矩形波を周波数 1 kHz で印加して いる. この周波数は参照信号としてロックインアンプにも 入力されている.最後に測定された信号を PC に入力し PC 上で加算平均を行っている.

3.2 MR センサの直列接続

MR センサシステムの感度は装置雑音によって決まって いる.免疫検査で用いる際,この装置雑音が大きいと小さ い信号は雑音に埋もれてしまうため、少ない抗原数の測定 ができなくなってしまう.よって MR センサシステムには 可能な限り小さい装置雑音が求められる.

本研究ではMRセンサシステムの低雑音化のために複数 のセンサを直列接続した新しいMRセンサシステムの導入 を行った.MR センサを N_{MR} 個用いて同時に測定を行うこ とで,加算平均と同じ要領で装置雑音を $1/\sqrt{N_{MR}}$ に低減で きると期待できる.これは信号電圧が N_{MR} 倍になるのに対 して雑音電圧が $\sqrt{N_{MR}}$ 倍になるためである.

今回は免疫検査の測定試料を入れる円盤状プレート内の 反応容器の大きさを考慮し、 $N_{MR} = 3$ 個の MR センサを用 いた.それぞれのセンサに 100 倍のアンプと set/reset 信 号用の電圧とオフセット電流を流す機能が付加された磁化 信号測定装置を用いた(QK-MSMCV2,九州計測器株式会



Fig.4 Noise spectrum of the MR sensor system. (a)sensor 1, (b)sensor 2, (c)sensor 3, (d)serially connection of 3 sensors (sensor 1+2+3).

社). 3 つの MR センサは直列に接続されており、それぞれ にブリッジ電圧V_{brige}が印加されている. センサを 3 つ用い

て同条件で測定すると装置雑音の大きさは1/√3倍になる ことが予想される. 用いた 3 つの MR センサをセンサ 1, 2, 3 とし, それぞれのセンサを単独で使用した場合と 3 つのセンサを同時に使用した場合の磁界雑音の大きさをス ペクトルアナライザで測定した結果を Fig.4 に示す.まず Fig.4(a)はセンサ1の雑音の大きさの周波数依存性を示し ており,縦軸は雑音の大きさの単位としてpT/√Hzで表して いる.円盤状プレート中の1つ当たりの測定試料が磁気セ ンサ上を通過する時間から信号周波数を見積もると約 4 Hz であり, 雑音の大きさは測定周波数 fmea =4 Hz 時を見 ればよいことになる.従って.センサ1の雑音の大きさは **Fig.4**(a)よりB_{t.1} =34.9 pT/√Hzとなる. 同様に **Fig.4**(b), Fig.4(c), Fig4(d)よりセンサ 2, センサ 3, 3つのセンサ(セ ンサ1+2+3)の雑音の大きさはそれぞれ $B_{t,2}$ =34.4 pT/ $\sqrt{\text{Hz}}$, $B_{t,3} = 32.5 \text{ pT}/\sqrt{\text{Hz}}, B_{t,1+2+3} = 19.4 \text{ pT}/\sqrt{\text{Hz}} となる. ここ$ で、センサ1とセンサ2とセンサ3の雑音の大きさの平均 値をとり $B_{t,ave} = 33.9 \text{ pT}/\sqrt{\text{Hz}}$ とする. この値を $1/\sqrt{3}$ 倍す ると 19.6 pT/ $\sqrt{\text{Hz}}$ となることから, $B_{t,1+2+3} \approx B_{t.ave}/\sqrt{3}$ が 成り立っていることが分かる.

実際の測定では、ローパスフィルタ(遮断周波数 16 Hz) と加算平均(加算回数 72 回)を用いている. 従って, *B_{t,1+2+3}* の値を用いると測定における peak-to-peak 雑音は以下の 式のように求まる.

$$B_{n,1+2+3} = \frac{2\sqrt{2} \times 19.4 \times \sqrt{16}}{\sqrt{72}}$$

$$= 25.9 \text{ pT}$$
(2)

この雑音が MR センサシステムの雑音となる.

従来のMRセンサシステムと新しいMRセンサシステム を用いて磁気信号を測定した結果を**Fig.5**に示す.**Fig.5** では磁気マーカーのみの信号を測定しており,磁気マーカ ー量が0であるところが装置雑音の大きさに相当する.こ れより,従来のMRセンサシステムと新しいMRセンサ システムの装置雑音の大きさはそれぞれ $B_{n,con}$ =49.2 pTと $B_{n,new}$ =26.9 pTと分かる.したがって,まず $B_{n,new} \approx$ $B_{n,1+2+3}$ より実際の装置雑音の大きさは**Fig.4**の結果から ほぼ計算通りに求められており,次に $B_{n,new} \approx B_{n,con}/\sqrt{3}$ よ り始めの試み通り実際の測定で装置雑音を低減できること を確認した.

4. 磁界中結合反応法による免疫検査

本章ではまず今回導入を行った,抗原と磁気マーカーを 結合する際に印加する反応磁界について説明する.次に反 応磁界を用いた場合の測定プロセス中の条件を変化させ, 現状で最もよい感度を示す条件を求める.最後に求めた条 件で液相磁気免疫検査を行った結果を示す.

感度の良い免疫検査を実現するには検出される信号に対



Fig.5 Relationship between the detected signal B_s and the weight of magnetic nanoparticle W_m . Symbols represent experimental results, while lines show the linear fit of the experimental result.

して、それ以外の信号であるブランクシグナルを可能な限 り小さくする必要がある.本研究で開発した液相磁気免疫 検査法では検出される信号は結合マーカーからの信号であ り、ブランクシグナルは3章で述べた装置雑音と未結合マ ーカー同士が凝集して意図しない信号を発する凝集信号の 和となっている.よって感度の良い液相磁気免疫検査法の 実現のためには未結合マーカー同士の凝集による信号の影 響を抑制する必要がある.未結合マーカー同士の凝集は強 い磁石で磁気励起された時に進行していると考えられてお り、本研究の測定法では Fig.2(i)に示す励起段階がそれに 該当する.しかし、この励起段階の励起回数kmagを少なく してしまうと検出したい信号である結合マーカーからの信 号も非常に小さくなってしまい,結局,免疫検査としての 感度は悪化してしまう. したがって、結合マーカーからの 信号の大きさを維持しつつ、kmagを少なくするための工夫 が必要である.

4.1 反応磁界について

結合マーカーによる信号を増加させ、未結合マーカー同 士による凝集の信号を低減させるための方法として試料作 製時における抗原と磁気マーカーの結合反応に着目した. 2 章に示している従来の反応環境に加え、弱い磁場で磁気 励起しながら反応を促した.この時の弱い磁場による磁気 励起を反応磁界*B_{re}と呼んで*いる.

従来の方法と反応磁界を用いた方法(磁界中結合反応法) で作製した測定試料の違いを **Fig.6**に示す. **Fig.6**(a)は従来 の方法で反応させた測定試料の場合である.この場合には 溶液中の磁気マーカーはブラウン回転運動をするため,反 応中の磁気マーカーの磁気モーメントはランダムな方向を 向いている.このため,マーカーはそれぞれの磁気モーメ



Fig.6 Effect of reaction field. (a)Conventional reaction method. Magnetic moments *m* of the bound markers become random. (b)Binding reaction using reaction field B_{re}. Magnetic moments *m* are aligned. (c) Comparison of blank and bound signals between the two reaction methods.

ント**m**reの向きがバラバラの状態で結合することになる. このため,結合マーカーからの信号は互いに打ち消しあい, 試料からの信号は小さくなる.

ー方,**Fig.6(b)**は反応磁界*B_{re}(*~1.5 mT)で磁気励起しな がら反応させた測定試料である.マーカーは反応磁界の影 響を受けてそれぞれの磁気モーメント*m_{re}が*反応磁界と同 じ向きに揃うようにポリマービーズと結合する.よって反 応後の測定試料の結合マーカーはそれぞれのマーカーの磁 気モーメント*m_{re}が揃った状態で結合されている.このた* め,この場合には試料からの信号は大きくなることが期待 できる.

従来の方法と反応磁界を用いた方法で試料を作製した疫



Fig.7 Relationship between S/N and measurement parameters. (a) Relationship between S/Nand k_{mag} ($B_{re} = 2.0$ mT). (b) Relationship between S/N and B_{re} .

検査の結果を **Fig.6**(c)に示す.**Fig.6**(c)に示す様に, N_p =0 の場合のブランクシグナルの大きさは両者とも同じである. これに対して結合マーカーによる信号は 1.5 mT の反応磁 界を用いた場合には、用いない場合に比べて 4 倍程度大き くなっている.従って、反応磁界を用いることにより未結 合マーカーによる凝集の信号を抑えつつ、結合マーカーの 信号を格段と大きくできたことが分かる.

4.2 測定プロセスにおける条件の最適化

4.2.1 励起回数kmag

免疫検査としての感度を考える上では前に述べたように 結合マーカーの信号が大きく,それ以外の信号であるブラ ンクシグナルが小さいことが望まれる.これを判断基準と して数値化したものを感度(*S/N*)として以下の式のように 定義する.

$$S/_N = \frac{B_{3000} - B_0}{B_0}$$
 (3)

ここで, B_{3000} はポリマービーズの数 3000 個の時の信号の大きさ, B_0 はポリマービーズの数 0 の信号の大きさでありブランクシグナルである.これで求められる S/Nが大き



Fig.8 Relationship between the detected signal B_s and the number of biotin-conjugated polymer beads N_p . Measurement parameters are (B_{re}, k_{mag}) =(1.5 mT, 1 cycle). Symbols represent experimental results, while a line shows the linear fit of the experimental result.

くなるときの条件が免疫検査に望まれる条件となる.

Fig. 2 で示した(i)励起段階における励起回数 k_{mag} の働き は,信号として得られる結合マーカーからの信号を大きく することである.しかしその反面,感度悪化の原因である 未結合マーカー同士の凝集を促進していると考えられてお り,励起回数 k_{mag} の最適化が必要となっている. k_{mag} を 0 回,1回,5回,10回とした時のS'Nの推移を**Fig.7**(a)に 示す.これより k_{mag} = 1回の時が最も良い条件であると分 かる.

4.2.2 反応磁界の大きさ B_{re}

反応磁界 B_{re} の働きは液相中の磁気マーカーのブラウン 回転運動を阻止し、ポリマービーズと結合させる際に磁気 モーメントの向きを揃えることである.しかし、反応磁界 はまだ研究段階であり、望んでいる働きを示すための反応 磁界の大きさ B_{re} は分かっていない.ここで、 B_{re} を 0.5 mT, 1 mT, 1.5 mT, 2 mT とした時の *S/N*の推移を **Fig.7**(b) に示す.この時、 B_{re} =1.5 mT, 2 mT の場合には、励起回 数として k_{mag} =1回を用いたが、 B_{re} =0.5 mT, 1 mT 時に 信号の検出が困難であったため、 k_{mag} =10 回で測定を行 った.**Fig.7**(b)に示す様に、 B_{re} =1.5 mT の時が最も良い条 件であることが分かる.

4.3 液相磁気免疫検査法の実験結果

今回導入を行った反応磁界を用いた液相免疫検査法により ビオチンの検出実験を行った.その結果を **Fig.8** に示す. 図の横軸はビオチンを固定化したポリマービーズ数を示す. 縦軸は信号磁界である.図の●印が実験結果であり、実線 は実験結果を直線近似したものである.この結果より、ポ リマービーズの数に伴って信号は比例的に増加しており, 定量的な測定ができていることが分かる.また、ポリマー ビーズ数としては250個までが検出出来ている.従来の研 究では検出できる最低ポリマービーズ数は 500 個/60 µlで あったが、今回 250 個/60 µlまで検出が可能となった.こ こで,1 つのポリマービーズには約 1000 個のビオチンが 結合されており、換算すると約 250000 個のビオチン粒子 が検出可能であると分かる.また,測定試料の容量 60 μlを 考慮すると、本研究で開発した液相磁気免疫検査法の検出 感度はモル濃度で6.9×10⁻¹⁸ mol/ml と表すことができる. この感度は ELISA を用いた手法における最高感度 (5×10⁻¹⁸ mol/ml)とほぼ同程度であり,洗浄工程を用いな い液相検査で高感度な検出が実現出来ていることがわかる.

5. まとめ

MR センサを用いた液相磁気免疫検査法の感度改善のために新しいMRセンサシステムの導入と反応中に磁場をかける反応磁界の導入を行った.まず新しいMRセンサシステムではセンサの数を3つ直列接続することで装置雑音の大きさを $1/\sqrt{3}$ 倍とする試みを行った.結果,従来のMRセンサシステムの装置雑音の大きさが $B_{n,con}$ =49.2 pTであったのに対し,新しいMRセンサシステムでは装置雑音の大きさを $B_{n,new}$ =26.9 pT と低減させることに成功し,理論通りの結果を得ることができた.

次に試料作製における抗原と磁気マーカーの結合反応中 に弱い磁場をかける「磁界中結合反応法」を導入した.こ の反応磁場を用いることにより、未結合マーカーによる凝 集の信号を抑えつつ、結合マーカーの信号を格段に大きく 出来る事を示した.この反応磁界を用いた場合に免疫検査 の感度を考える手段として S/Nを定義し、励起回数と反応 磁界の大きさがそれぞれkmag =1回とBre =1.5 mT が今回 の検証を行った中で最も良い条件となった.

最後にこれらの結果を元に免疫検査の実験を行い、従来の研究の検出可能な最低ポリマービーズ数の 500 個/60 μl から 250 個/60 μlと検出感度を上げることに成功した.

参考文献

- A. J. Cunningham: Introduction to Bioanalytical Sensors, First ed. John Wiley&Sons, Inc., 1988.
- N. T. K. Thanh: MAGNETIC NANOPARTICLES From Fabrication to Clinical Applications, CRC Press, 2012, pp.243-276.

- 3) X. Zhang et al: Molecular sensing with magnetic nanoparticles using magnetic spectroscopy of nanoparticle Brownian motion, Biosensors and Bioelectronics 50(2013) pp.441-446.
- J. B. Weaver et al: Measurement of magnetic nanoparticle relaxation time, Medical Physics 39 2765(2012) 3701775.
- 5) K. Enpuku et al: Liquid-phase immunoassay utilizing binding reactions between magnetic markers and targets in the presence of a magnetic field, Applied Physics Express 7 097001(2014).
- 6) S. Uchida et al: Highly Sensitive Liquid-Phase Detiction of Biological Targets With Magnetic Markers and High Tc SQUID, Applied Superconductivity 24(2014)1600105.
- K. Enpuku et al: Fast Detection of Biological Targets With Magnetic Marker and SQUID, Applied Superconductivity 19(2009) pp.844-847.
- H. Kuma et al: Liquid phase immunoassays utilizing magnetic markers and SQUID magnetometer, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 48(2010) pp.1263-1269.
- 9) Y. R. Chemla et al: Ultrasensitive magnetic biosensor for bomogeneous immunoassay, PNAS 97(2000) pp.14268-14272.
- 10) T. Hirata et al: Liquid-Phase Immunoassay Using Relaxation Measurement of Magnetic Markers, Research Reports on Information Science and Electrical Engineering of Kyushu University 18(2013) pp.1-6.
- 11) R. S. Gaster et al: Quantification of protein interactions and solution transport using high-density GMR sensor arrays, nature nanotechnology 6(2011) pp.314-320.
- 12) J. Devkota et al: Detection of low-concentration superparamagnetic nanoparticles using an integrated radio frequency magnetic biosensor, Applied Physics 133 104701(2013).
- Y. Li et al: External-field-free magnetic biosensor, Applied Physics 104 122401(2014).
- 14) K. Enpuku et al: to be published in IEEE Trans.Magn.
- 15) D. F. He et al: An anisotropic magneto resistive sensor with set/reset field, review of scientific instruments 82 094703(2011).