九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

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：

九州大学大学院
システム情報科学紀要
第 20 巻　第 1 号　平成 27 年 1 月

Research Reports on Information Science and
Electrical Engineering of Kyushu University
Vol.20, No.1, January 2015

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―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―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[5-7]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，2.5×10^5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
**　電気システム工学部門

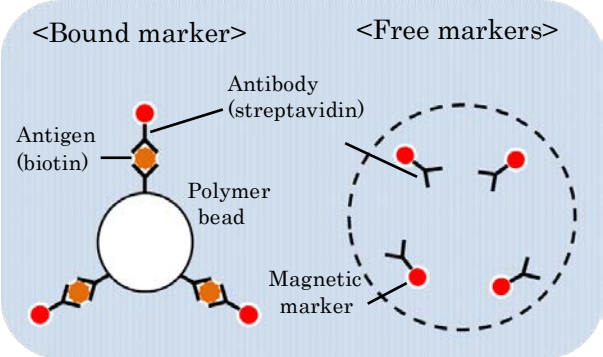

Fig.1　Bound and free markers. Bound markers are fixed to a large polymer bead through the binding reaction between antigen and antibody.

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τ_Bと呼ばれ，次式で与えられる．

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

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―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 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 $\boldsymbol{m}$ 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 $\boldsymbol{m}$ 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 $\boldsymbol{m}$ 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

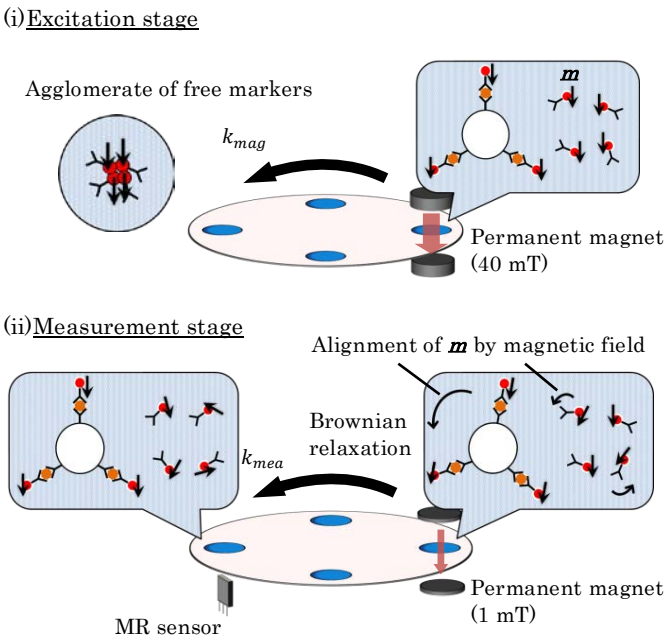

Fig.2 Measurement method using two stages. (i)Excitation stage for magnetization, and (ii)Measurement stage for liquid phase detection of bound markers.

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いる．

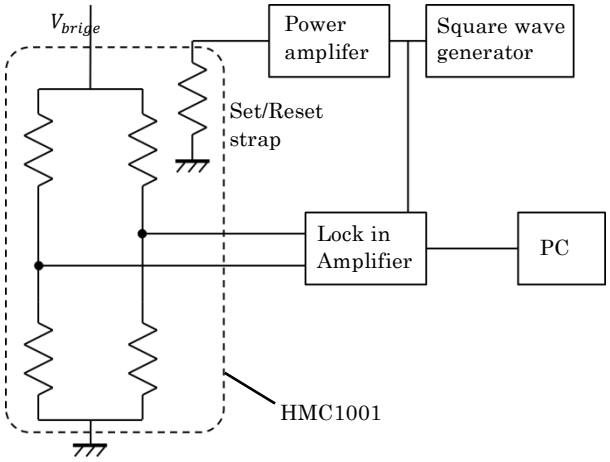

Fig.3 Block diagram of the AMR driving circuit with set/reset method (MR sensor system).

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 strap[15]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

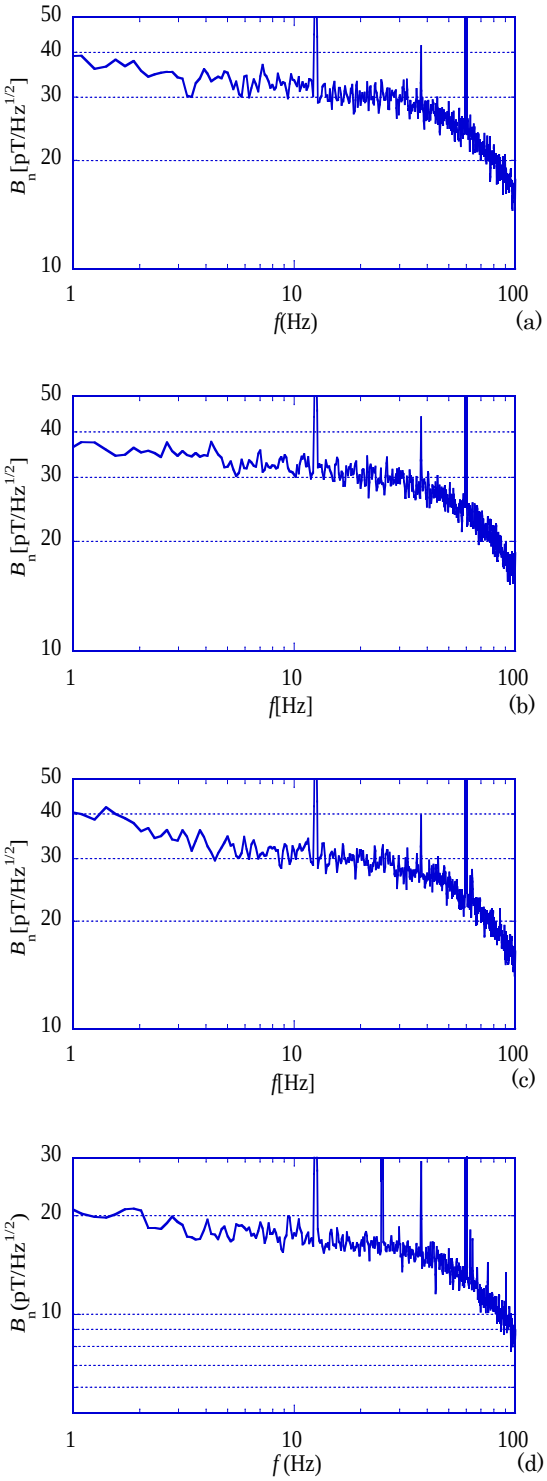

Fig.4　Noise spectrum of the MR sensor system. (a)sensor 1, (b)sensor 2, (c)sensor 3, (d)serially connection of 3 sensors (sensor 1+2+3).

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$1/\sqrt{3}$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$\mathrm{pT}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$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f_{mea} =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 $\mathrm{pT}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$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 $\mathrm{pT}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$, $B_{t,3}$ =32.5 $\mathrm{pT}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$, $B_{t,1+2+3}$ = 19.4 $\mathrm{pT}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$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 $\mathrm{pT}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$とする．この値を$1/\sqrt{3}$倍すると 19.6 $\mathrm{pT}/\sqrt{\mathrm{Hz}}$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．

$$B_{n,1+2+3} = \frac{2\sqrt{2} \times 19.4 \times \sqrt{16}}{\sqrt{72}} = 25.9\ \mathrm{pT} \tag{2}$$

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

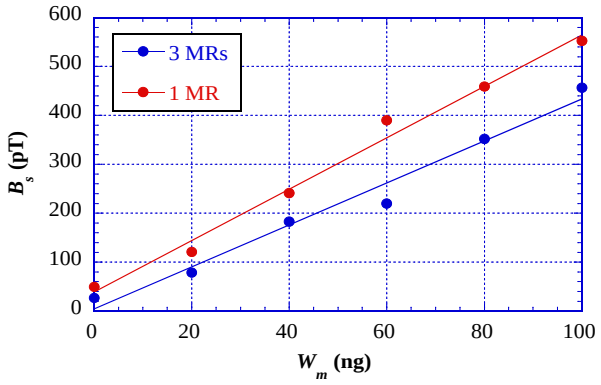

Fig.5 Relationship between the detected signal B_s and the weight of magnetic nanoparticle W_m. Symbols represent experimental results, while lines show the linear fit of the experimental result.

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k_{mag}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，k_{mag}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ント$\boldsymbol{m}_{re}$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．

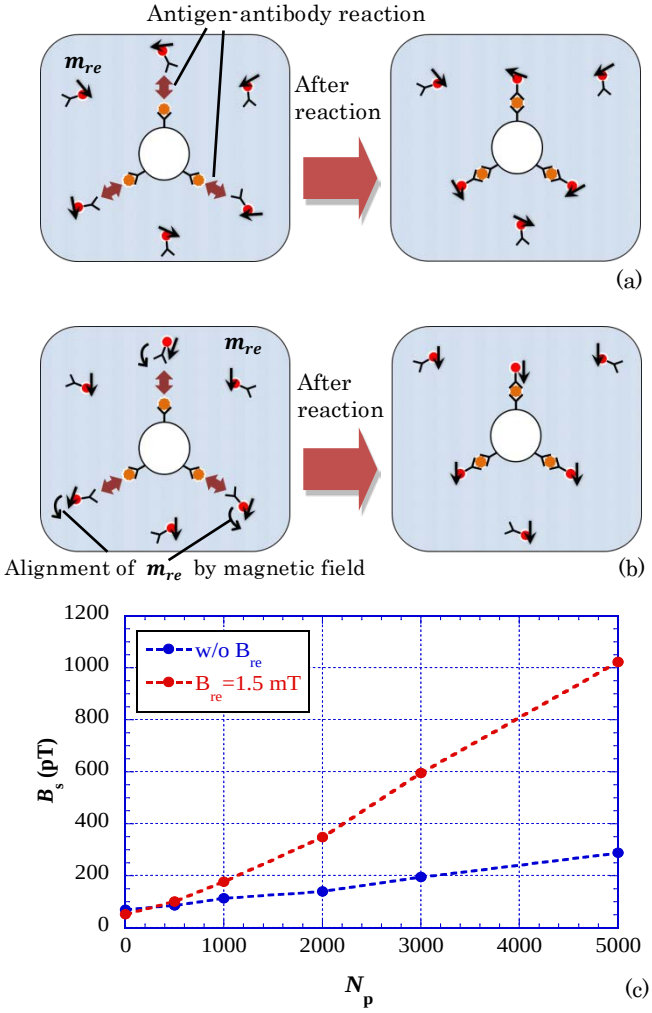

Fig.6 Effect of reaction field. (a)Conventional reaction method. Magnetic moments $\boldsymbol{m}$ of the bound markers become random. (b)Binding reaction using reaction field B_{re}. Magnetic moments $\boldsymbol{m}$ are aligned. (c) Comparison of blank and bound signals between the two reaction methods.

一方，**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$\boldsymbol{m}_{re}$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$\boldsymbol{m}_{re}$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

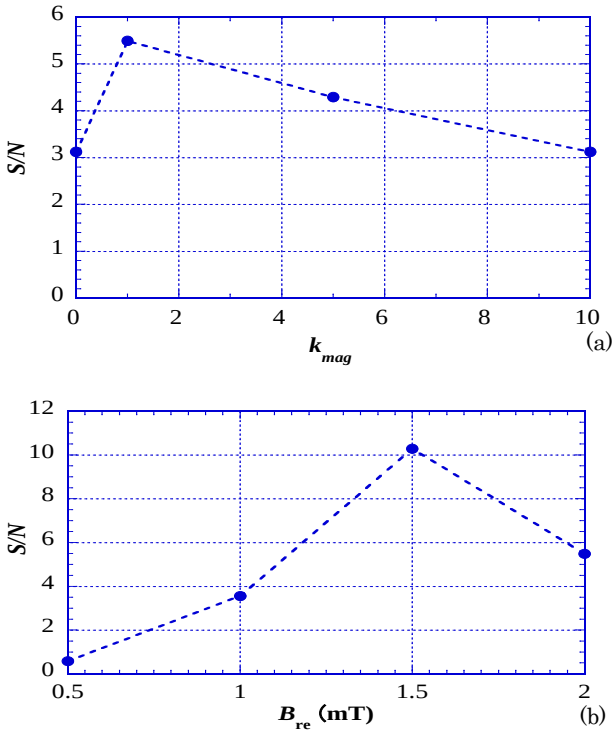

Fig.7　Relationship between *S/N* and measurement parameters. (a) Relationship between *S/N* *and* k_{mag} (B_{re} = 2.0mT). (b) Relationship between *S/N* and B_{re}.

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k_{mag}

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．

$$S/N = \frac{B_{3000} - B_0}{B_0} \tag{3}$$

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* が大きくなるときの条件が免疫検査に望まれる条件となる．

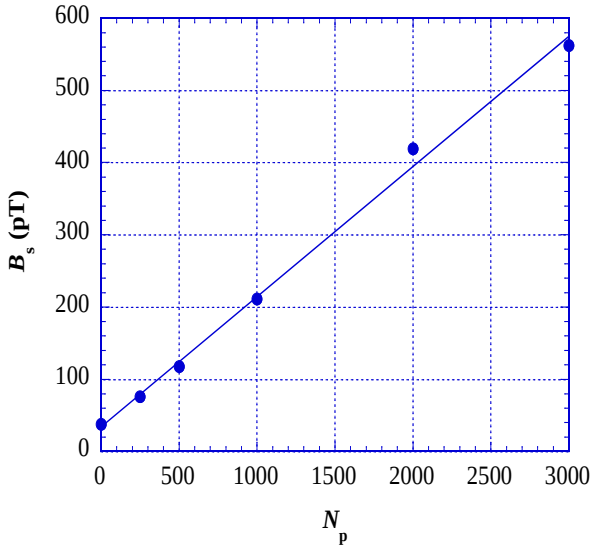

Fig.8　Relationship between the detected signal B_s and the number of biotin-conjugated polymer beads N_p. Measurement parameters are (B_{re}, k_{mag})=(1.5 mT, 1 cycle). Symbols represent experimental results, while a line shows the linear fit of the experimental result.

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$B_{n,\mathrm{con}}$ =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k_{mag} =1 回とB_{re} =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

1) A. J. Cunningham: Introduction to Bioanalytical Sensors, First ed. John Wiley&Sons,Inc., 1988.
2) 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.
4) 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.
7) K. Enpuku et al: Fast Detection of Biological Targets With Magnetic Marker and SQUID, Applied Superconductivity 19(2009) pp.844-847.
8) 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).
13) 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).