

ナノ粒子を応用した分析方法 イムノクロマト技術の現状と将来性

株式会社ピーエル
開発本部
難波 靖治

クロマトグラフィー法

- 毛細管現象により抗体がメンブレン上を移動する際、検体中の抗原と色素標識抗体及び捕捉抗体の3者により、抗原抗体反応複合体が形成され、その標識色素を目視で確認する測定方法。

感染症診断法の現状

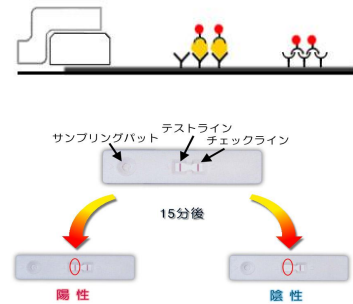
PCR法

- 検出感度 《現在最高感度》
 $10^3 \sim 10^4$ CFU/mL
- 操作が複雑である
- 特別な機器を用する
- 測定に数時間を要する

イムノクロマト法

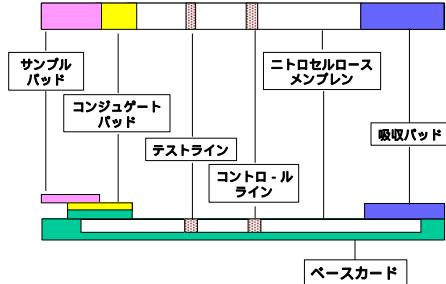
- 検出感度《PCR法の1/10 ~ 1/100》
 $10^5 \sim 10^7$ CFU/mL
- 操作が簡便
- 特別な装置が不要（判定は目視）
- 測定に3~30分と迅速

イムノクロマトグラフィーキットの原理

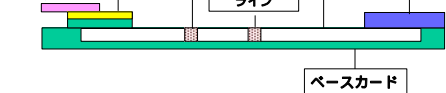


イムノクロマトグラフィーのデバイス模式図

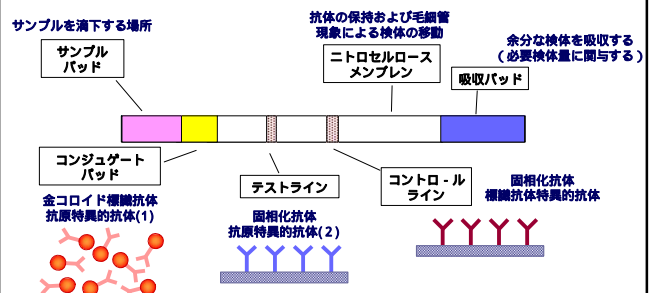
上から見た図

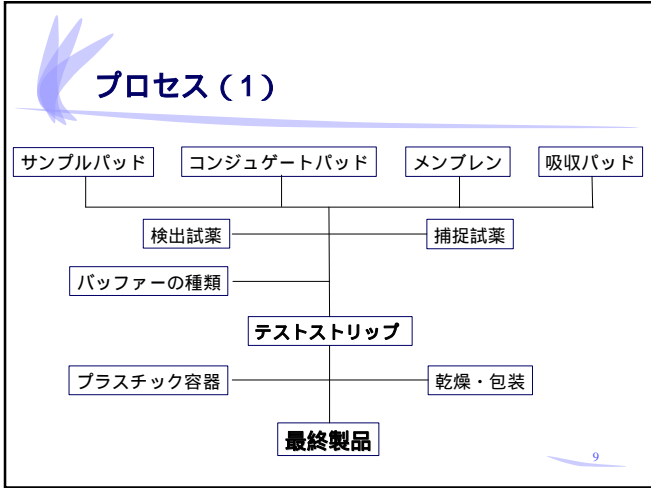
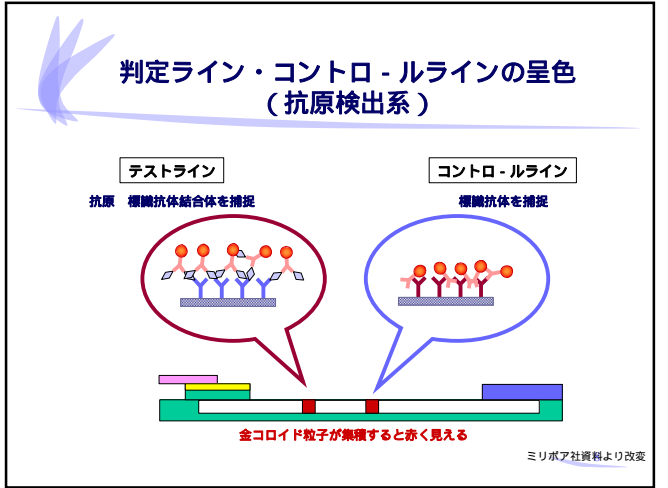
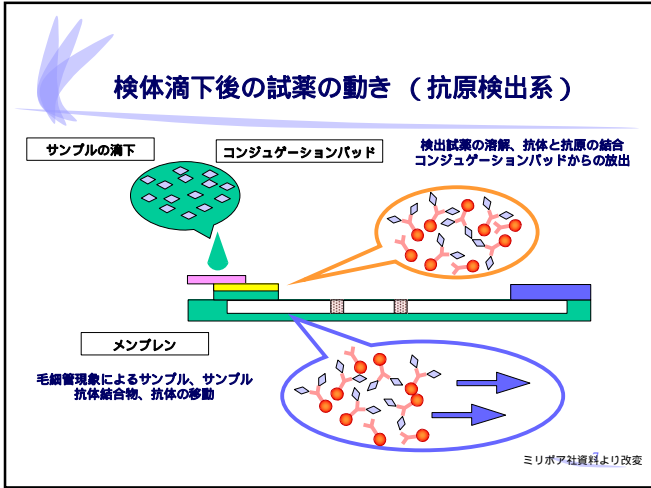


断面図

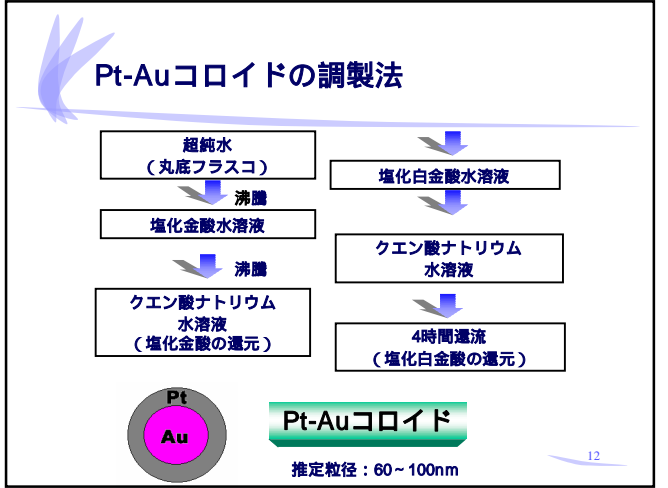
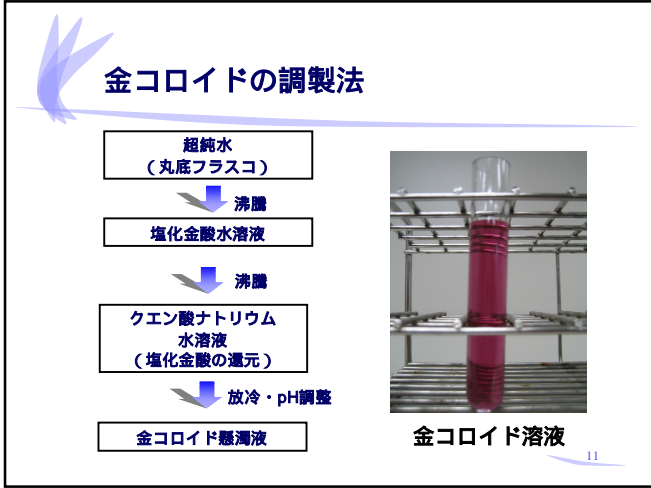


一般的なイムノクロマトグラフィーストリップ各部の役割（抗原検出系）





- ### プロセス (2)
- 抗体の調製
 - ELISAでの確認
 - 金コロイドの調製 (粒子径 10~100nm)
 - メンブレンの決定
 - 処方の決定
 - 緩衝液の決定
 - 安定性試験
 - 治験
 - 薬事申請
- 10



Pt-Auコロイドの製造システムの構築・製造技術の確立

問題点

- 金コロイドに白金コロイドを被覆させる方法
 - 凝集・沈殿物を生じやすい。
 - 長期間の保存で不安定化

Pt-Auコロイド調製法の改良

- 金コロイドの粒径と被覆条件の検討
- イムノクロマト法に適した粒径への最適化



13

イムノクロマト法の特徴

- 24時間、検査の依頼に対して対応できる。
- 誰でも測定することが出来る。
- 迅速に結果を出すことが出来る。
(10~15分)
- 大型の機械などが不要である。

14

測定方法の種類

- RPHA (Reverced Passive Hemagglutination)
逆受身赤血球凝集反応
- RPPA (Reverced Passive Particle Agglutination)
逆受身粒子凝集反応
- RIA (RadioImmuno Assay)
放射性免疫測定法
- EIA (Enzyme ImmunoAssay)
酵素免疫測定法
- FIA (Fluorescence ImmunoAssay)
蛍光偏光免疫測定法
- CLIA (ChemiLuminescence ImmunoAssay)
化学発光免疫測定法
- LIA (Latex Immunoagglutination Assay)
ラテックス免疫比濁法

15

測定物質

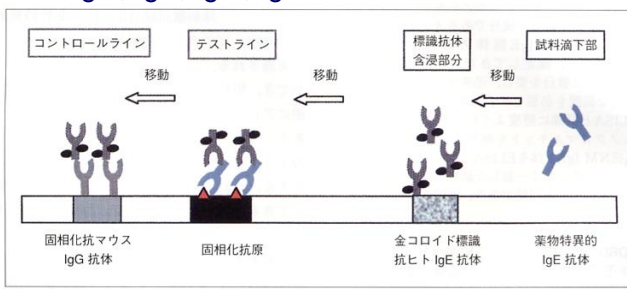
- **低分子**
ステロイド、ペプチド、芳香族化合物など
- **高分子**

タンパク質	CRP, ヘモグロビン
LPS	微生物の表面 (レジオネラ属菌)
DNA	PCR後の測定
ウイルス	インフルエンザウイルス アデノウイルス
微生物	O-157

16

抗体測定

- IgG, IgA, IgM, IgE



サンプルの種類

- 血清・血漿
- 全血
- 便
- 尿
- その他、体液 (咽頭拭い液・鼻汁・唾液など)
- 植物の抽出液
- 食品の抽出液

18

検査項目

- 妊娠関連 hCG, LH
- 心筋梗塞関連 Myoglobin, CK-MB
Troponin I, T
- 腎機能 U-ALB, CRP
- 薬物 コカイン, マリファナ
モルヒネ
- 感染症 Strep. A, Rotavirus, Hbs
HIV抗体, TP抗体

19

イムクロマト製品

- 結核菌群同定試薬
MPB64放出タンパク
- インフルエンザウイルス抗原検出試薬
NP (核タンパク質)
- アデノウイルス抗原検出試薬
カプシドタンパク
- 大腸菌ペロトキシン検出試薬
ペロトキシン
- 大腸菌O157抗原検出試薬
O157抗原
- レジオネラ属菌検出試薬
リボポリサッカライド

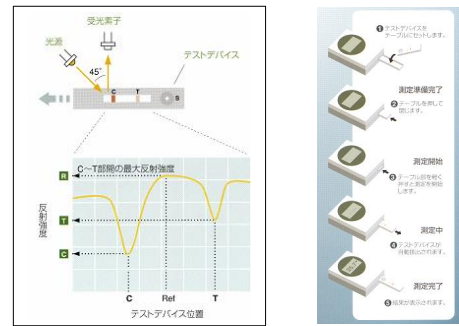
20

イムクロマトリーダー

Point Of Care Testing

株式会社ワンズ 勤務時間外連絡先43番 TEL 055-925-6200

測定原理



22

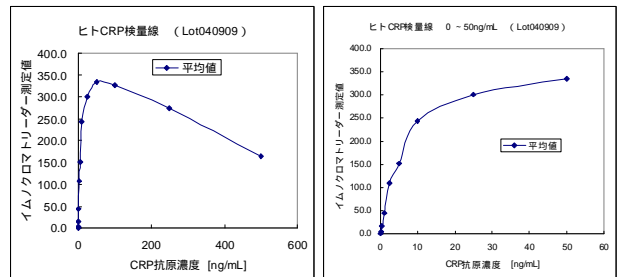
判定結果

検体No.	目視判定*	+	±	-	測定値**	備考***
1	9	12	0	2	3	X 1600
2	8	14	0	0	14	X 1000
3	5	14	0	0	35	X 400
4	4	14	0	0	69	X 200
5	6	14	0	0	28	X 500
6	Blank	0	0	14	0	Blank
7	3	14	0	0	115	X 100
8	7	14	0	0	20	X 800
9	2	14	0	0	196	X 50
10	1	14	0	0	298	X 20
11		7	3	3	7	当日調製品 (x1600)

*) 目視判定: 発色度合の高いものよりナンバリング
 **) 3台の平均値
 ***) 希釈倍率

23

検量線



24



今後の問題・課題

- **開発途上国でも利用できる試薬**

但し低価格（1\$以下？）

- **個人差の出やすい試薬**

但し読み取り装置もある。

- **ELISAとほぼ同感度測定できる試薬**

感染症では 10^3 個/ml以下を測定したい。