

## イムノクロマト法キットによる 微生物・ウイルスの迅速簡易検出

太田 俊也

2003年の冬は、インフルエンザが猛威を奮い、多くの感染者が病院を訪れた。近年、病院では、風邪の諸症状と発熱を訴えると、短時間の間にインフルエンザ感染の有無を検査し、インフルエンザであれば抗ウイルス剤であるノイラミニダーゼ阻害剤あるいはアマンタジンが適切に処方されるようになった。

現在、インフルエンザをはじめ、結核菌、大腸菌O-157のペロ毒素、レジオネラ属菌、B型肝炎ウイルスなどの感染症診断のいくつかは、イムノクロマト法(IC法)を応用したキットを用いて行われている。IC法は、特殊な機器や器具を必要とせず、検出に要する時間も15分程度であるなど、迅速な診断が可能であることから、医療機関での緊急検査に広く用いられている。簡便で特別な技術を必要としないIC法は、環境汚染のモニタリングや食品検査への応用など、さまざまな方面での応用が可能であり、非常に有用性が高い技術である。

IC法の原理は、免疫測定法のサンドイッチ法とクロマトグラフィー(CG)を組み合わせた検出法である。CGを行う支持体としては、ニトロセルロースなどのメンブレンフィルターを使用し、これをプラスチックケースに内蔵したものやラミネートでシールされたものが一般的である。支持体は、試料添加パッド、反応部、判定部、対照部、吸収パッドから構成されている。反応部には、金などの金属コロイド、セレンやポリスチレンなどのコロイドあるいは酵素で標識された標識抗体が塗布され、判定部にはライン状に目的抗原に対するトラップ抗体が固相されている。操作は、通常数10~100  $\mu$ lのサンプルを試料添加部に添加すると、メンブレン上を展開しながら、検出目的の抗原と塗布された標識抗体とが結合し、抗原と結合した標記抗体のみが抗原を介してトラップ抗

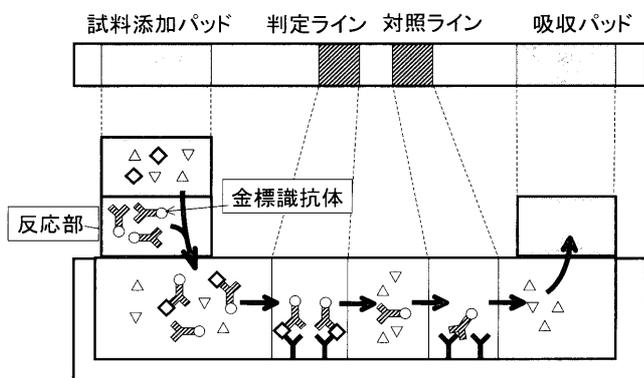


図1. IC法の概念図(下はケースの断面図)

静岡県沼津工業技術センターバイオ技術スタッフ  
(主任研究員/技術士〔生物工学〕)  
〒410-0022 沼津市大岡3981-1  
Tel. 055-925-1102 Fax. 055-925-1108  
E-mail: oota@n-iri.pref.shizuoka.jp  
1988年 東京理科大学理学専攻科化学専攻修了  
現在の興味: 遺伝子工学技術による分子認識物質の開発と応用

体と結合し判定ラインを形成する。結合しなかった抗原は、抗IgG抗体を塗布したコントロールラインにトラップされ、ラインを形成する。反応時間は5~60分程度で15分後には判定できるキットが多い。

このように迅速簡易という利点を持つIC法であるが、①定量性に乏しい(数値化しにくい)、②感度が一般的な発色系のELISA法と比べて同等か若干劣る、③サンプル成分の影響をELISA法に比べて受けやすい、などの欠点も存在する。これらの欠点を克服するため、さまざまな工夫がなされている。

①に関しては、分析物(尿中血清アルブミン)の濃度を定量するため、分析物濃度をバーコードの数として数値化し、半定量を可能とした報告がある。<sup>1)</sup> ②に関しては、感度を向上させるため、りん光体(UCP)を標識物質として使用した報告例<sup>2)</sup>や、触媒能を有する白金ナノ粒子を利用した報告例<sup>3)</sup>などがある。③については、支持体であるメンブレンが抗原の分子量や物理的性質に影響されやすいことから、使用するメンブレンの特性に着目し、毛細管現象で抗原と抗体がきれいに展開する性質や固相化抗体を保持する性質など、目的に合わせてメンブレンを選択することが重要なポイントである。<sup>4)</sup>

環境中の微生物の検出や食品中の品質管理など広い分野でIC法を活用する際、検出感度が問題となる。レジオネラ属菌の例では、IC法による検出限界は $5 \times 10^4$  CFU/mlである<sup>5)</sup>(一般にタンパク量で数ng)。一方、PCR法による検出感度は $10^2 \sim 10^3$  CFU/mlであるが、検体からのDNAの抽出効率やPCR反応というバイアスを考慮しなければならない。IC法はPCRに比べ、現段階では感度の面で若干劣るが、今後、感度などの改善がなされ、さらに有力な手法になるものと思われる。

また、ファージ提示法と遺伝子工学を利用した一本鎖抗体(single chain Fv)やアプタマーなど新たな分子認識物質の作製技術の発展もめざましいことから、今後これらとの融合により、IC法のさらなる応用が期待される。

- 1) Cho, J. H. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, **75**, 725 (2001).
- 2) Hampl, J. et al.: *Anal. Biochem.*, **288**, 176 (2001).
- 3) 石塚ら: 第4回化学工学会学生発表会要旨集, p.9 (2002).
- 4) [http://chiringi.or.jp/k\\_library/k\\_keessei00315/keessei.html](http://chiringi.or.jp/k_library/k_keessei00315/keessei.html)
- 5) 尾崎ら: 有害微生物管理技術II, p.497, フジ・テクノシステム (2000).