

17a-E8-4

## ダニアレルギーの動態評価に向けた蛍光免疫計測システム Fiber-optic fluoroimmunoassay system for *on-site* evaluation of mite allergen

医科歯科大, °三木大輔, 宮島久美子, 荒川貴博, 三林浩二

Tokyo Medical and Dental Univ., °Daisuke Miki, Kumiko Miyajima,

Takahiro Arakawa, Kohji Mitsubayashi

E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

### 【はじめに】

近年、アレルギー性疾患の増加が世界的な社会問題となっている。特に、住環境にてアレルギーを引起す主なアレルゲンとしてダニ由来の *Der f1* が挙げられ、その住居内での分布評価が求められている。現在、アレルゲンの測定法として ELISA 法などの免疫計測法が広く用いられているが、アレルゲン濃度の経時変化を連続的にモニタリングすることや、またその空間的分布を評価することは容易でない。そこで本研究では、高感度かつ迅速な免疫測定が可能な光ファイバ型蛍光免疫計測システムを開発し、アレルゲン *Der f1* の測定に応用した。また住環境中アレルゲンの *on site* 計測を目指し、実際の住環境中ダストの *Der f1* 測定を行った。

### 【実験方法】

Fig.1 に蛍光免疫計測システムと検出原理の模式図を示す。測定プローブはレンズ付き光ファイバで、ファイバ側面の蛍光標識した免疫複合体をエバネッセント波により励起し、蛍光測定する。実験では、まず光ファイバの側面に捕捉抗体を固定化し、蛍光標識抗体を用いてサンドイッチ法により *Der f1* を捕捉・標識した。この光ファイバに励起光を導入し、エバネッセント波により標識抗体の蛍光色素を励起させ、生じた蛍光を検出することで、*Der f1* の測定を行った。なお測定プローブにフローセルを取り付け、光ファイバを固定した状態で、サンプルや試薬の送液、蛍光測定が行えるように改良し、測定時間の短縮を図った。また住環境中からの採塵試料を本法と ELISA 法での測定に供し、本法の *Der f1* 測定の有効性を調べた。

### 【結果及び考察】

作製した光ファイバ型蛍光免疫計測系により *Der f1* の測定を行ったところ、二次抗原抗体反応後に *Der f1* 濃度に応じた蛍光出力が得られた。各濃度での蛍光出力の差分値をもとに定量特性を求めたところ、0.98~250 ng/ml の範囲で *Der f1* の定量が可能であった。測定に要する時間は 1 検体あたり約 16 分と、ELISA 法(約 150 分)と比べて迅速な測定が可能であった。またフローセルの導入により、二次抗原抗体反応時の蛍光強度の漸次増加の観察が可能となり、その蛍光増加速度をもとに *Der f1* の濃度定量(0.98~250 ng/ml)を行うことができ、測定時間も 1 検体あたり約 6 分へと大幅に短縮した。さらに、住環境中試料からの *Der f1* 測定を行った結果、ELISA 法と高い相関性( $R=0.983$ )が得られ、簡便かつ迅速な住環境ダニアレルギーの *on site* 計測の可能性が示唆された。

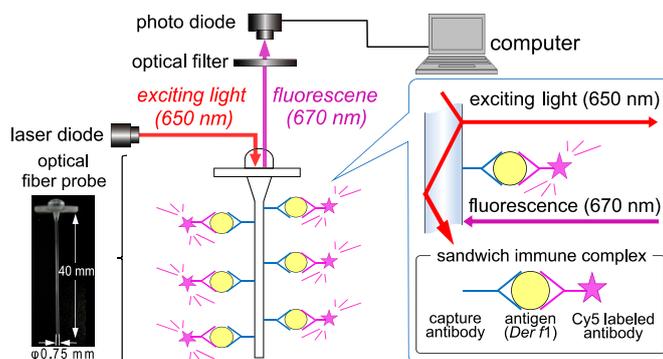


Fig.1 Schematic diagram of fiber-optic fluoroimmunoassay system for mite allergen