マイクロ水滴内小分子イムノアッセイのための水相-逆ミセル間有 機小分子輸送解析

(東北大1) ○小川真季1・福山真央1・須藤誠1・火原彰秀1

Transport analysis of small organic molecules between aqueous phase and reverse micelles for small molecule immunoassay in micro-water droplets (1*Tohoku University*) •Maki Ogawa, 1 Mao Fukuyama, 1 Makoto Suto, 1 Akihide Hibara 1

Micrometer-sized water-in-oil droplets (microdroplets) have been used as nanoliter-sized containers for trace biochemical analyses, such as single cell analyses. If immunoassay, one of the most general method for biomolecular quantitation, can be realized within one droplet, it will increase the applicability microdroplets. However, since separation between antigenantibody complex and free labeled antigen (or antibody) is difficult, only a few studies have been reported. Especially, there were no reports on immunoassays of small molecules. The objective of this study is the demonstration of a competitive immunoassay in microdroplets using small molecule transport to reverse micelles in oil.

Prostaglandin E2 (PGE2), a type of eicosanoid, was selected as a target. Fluorescein-labeled PGE2 with a polyethylene glycol linker was used as a tracer. When the tracer bound to the antibody, it behaved as a pseudo-large molecule and remained in microdroplets, while the free tracer partitioned to the micelles in organic phase. By utilizing the behaviors, competitive immunoassay of PGE2 can be achieved by measuring the fluorescent intensity of the microdroplets. We will demonstrate competitive immunoassays of PGE2 using this tracer.

Keywords: Microdroplets; Immunoassay; Surfactant; Microfluidic device

マイクロメートルサイズの油中水滴(マイクロ水滴)は微小な反応場・分析場として微量生化学分析に利用されてきた。生体分子定量の汎用的手法であるイムノアッセイを 1 水滴内で実現できればマイクロ水滴の応用範囲拡大につながるが、抗体-抗原複合体と未結合の標識抗原(または標識抗体)の分離が難しく、数例しか報告がない。特に、小分子のイムノアッセイは全く報告がなかった。本研究は油中逆ミセルへの有機小分子輸送を利用した、マイクロ水滴内競合イムノアッセイ法の実証を目的とする。エイコサノイドの一種であるプロスタグランジン E2 (PGE2)をターゲットとした。PGE2にポリエチレングリコールをリンカーとしてフルオレセイン誘導体を修飾したトレーサーを用いた。標識抗原は抗体と結合すると、疑似的に大きな分子として振る舞い水滴内に留まった。一方、未結合のトレーサーは水滴外の逆ミセルに分配することが分かった。そのため、これらの性質を利用すれば、トレーサー・抗原と抗体の競合下では、抗原の多寡によって水滴内の蛍光強度が変化し、競合イムノアッセイができると考えられる。今後、このトレーサーを利用した競合イムノアッセイの実証を目指す。