

ナノインプリント製フォトニック結晶を用いた非標識バイオ分析

Novel label-free bioassay using nanoimprinted photonic crystal

阪府大院工¹, SCIVAX 株², 和光純薬工業株³ °遠藤達郎¹, 梶田浩志², 和田正悟³, 白石浩巳³,
奥田徳路², 田中 覚², 末吉健志¹, 久本秀明¹

Osaka Prefecture Univ.¹, SCIVAX Co., Ltd.², Wako Pure Chemical Industries, Ltd.³ °Tatsuro Endo¹,
Hiroshi Kajita², Shogo Wada³, Hiromi Shiraishi³, Norimichi Okuda², Satoru Tanaka², Kenji
Sueyoshi¹, Hideaki Hisamoto¹

E-mail: endo@chem.osakafu-u.ac.jp

[背景・目的] 酵素免疫測定法 (Enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) をはじめとするバイオ分析法は、操作ステップ数が多く、酵素や蛍光色素など特定の標記剤を導入する必要があった。本研究は、ナノ周期構造を有する光学素子であるフォトニック結晶(Photonic crystal: PhC)が、特定波長光を反射または透過し、周辺屈折率変化に対して鋭敏に強度が変化することを利用したバイオ分析法の開発を行った。本バイオ分析法は、抗原抗体反応など測定対象物質と認識素子とが特異的に結合・解離することで生じる PhC 周辺の屈折率変化を反射・透過光強度変化として検出可能であるため、標記剤を導入する必要がなく (非標識)、操作ステップ数を削減させることが可能となる。本研究では、ナノインプリントリソグラフィ(Nanoimprint lithography: NIL)を用いて作製した PhC をマイクロタイタープレート内に配置し、抗原抗体反応の検出を行ったので報告する。

[実験方法] ナノインプリント製ホールアレイ PhC (孔径・ピッチ: 230 nm) を切り出し、96 穴マイクロタイタープレートのウェル内に配置した。抗体は、各ウェルへ抗ヒトインスリン抗体溶液 (1 µg/ml) を滴下・静置することで、固定化した。抗体固定化後は、ウシ血清アルブミン溶液 (1 µg/ml) を用いてブロッキング操作を行い、バイオ分析に使用することとした。バイオ分析には、異なる濃度に調製したインスリン溶液 (0~100 µU/ml) を滴下し、抗原抗体反応させた後、洗浄操作・乾燥させ、プレートリーダーにて吸収スペクトル測定を行った (Fig. 1)。

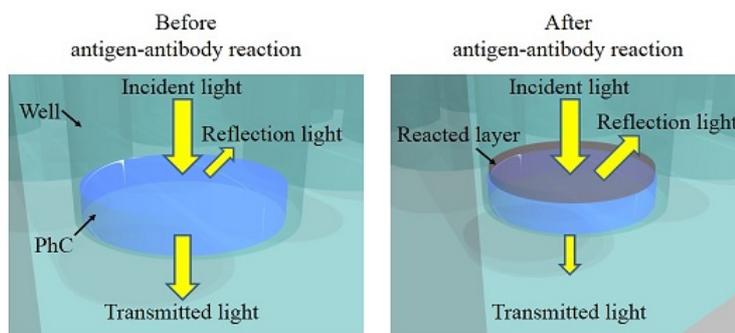


Fig. 1 Schematic illustration of nanoimprinted PhC-based label-free bioassay.

[実験結果] ナノインプリント製 PhC は、特定波長光反射に起因する吸収ピークが 450 nm に観察された。また、抗体固定化、抗原抗体反応によって PhC 周辺の屈折率が変化し、吸収ピーク波長および強度が変化することが観察された。以上の結果から、PhC を用いることで非標識かつ操作ステップ数削減が可能なバイオ分析法を構築することに成功した。

[謝辞] 本成果は SCIVAX 株式会社および和光純薬工業株式会社の支援によって得られたものである。ここに謝意を表す。