

フォトニック結晶ナノレーザバイオセンサとリムルス試薬を用いた 高速・高感度エンドトキシン検出

High-Speed Sensitive Detection of Endotoxin using
Photonic Crystal Nanolaser Bio-Sensors and Limulus Agent

横国大・院工

○高橋大智, 羽中田祥司, 西島喜明, 馬場俊彦

Yokohama Nat'l Univ.

○D. Takahashi, S. Hachuda, Y. Nishijima, T. Baba

E-mail: takahashi-daichi-mf@ynu.jp

我々はフォトニック結晶 (PC) ナノレーザバイオセンサを開発し, BSA タンパク質の吸着やビオチン-ストレプトアビジン反応の高感度検出を報告してきた^{1,2)}. 最近では, 抗原抗体反応を利用して, PSA, CRMP2 といった重度疾患バイオマーカーを検出しており^{3,4)}, さらに広範な応用も期待される. ところで, エンドトキシン (ET) はグラム陰性菌由来の毒素であり, 自然界に広く分布し, 水道水にも含まれる. 透析液や注射剤など, 医薬品の品質管理において, その検査と除去は非常に重要である. 現在の ET 検査法は, 高感度に ET と反応しゲル化するリムルス試薬を用いる. しかし, 低濃度での検出には約 1 時間を要するため救急や臨床現場では大きな課題となっており, 短時間での低濃度 ET 検出が待望されている. 前回は ET 結合ペプチドアプタマ (Li5-025) を用い ET の直接検出を報告したが, 感度が十分ではなかった⁵⁾. 今回は, ET とリムルス試薬の高感度なゲル化反応をナノレーザセンサにより高速に検出できるかどうかを調査した.

本実験では感度 0.015 EU/ml のリムルス試薬を使用し, ET の混入を防ぐため加熱可能な実験器具は全て 230°C で 1 時間以上滅菌した. 既知濃度 ET 溶液を 200 μ l をリムルス試薬に加え, 温度コントローラで溶液を 38°C に保ち, 屈折率変化を PC ナノレーザにより測定した. その結果を図 1 に示す. 超純水 (ET なし) では 30 分までシフトが見られなかったことから背景ノイズ成分は小さいと考えられる. ET ありでは 10 分前後で波長シフトが観測され, ET なしとの明瞭な違いが見られた. リムルス試薬の感度限界とほぼ等しい濃度 0.02 EU/ml であるが, 検出時間は 15 分程度と高速である. これは高感度リムルス試薬を用いた時の比濁時間分析法⁶⁾よりも高速である. 図 2 に測定後のデバイスの光学顕微鏡像を示す. 図 2 のように, ET あり/なしで表面状態にも明瞭な差が見られた.

なお, 本研究は科研費基盤研究(S)の支援を得て行われた.

参考文献 1) S. Kita et al., Opt. Express, **97**, 161108 (2011). 2) S. Hachuda et al., Opt. Express, **21**, 12815 (2013).

3) 羽中田ら, 応物秋季 (2013) 17a-P14-4 4) 磯野ら, 応物秋季 (2013) 18a-P5-11 5) 高橋ら, 春季応物

(2014) 18a-PG5-15 6) H. Oishi et al., Pharmaceutical Society of Japan, vol.105 300-303, 1985.

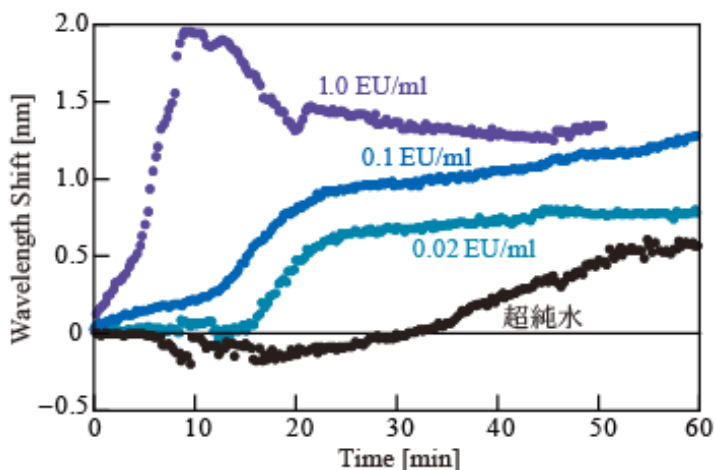


図 1 リムルス試薬に各溶液を加えた後の時間経過に対する波長シフト量.

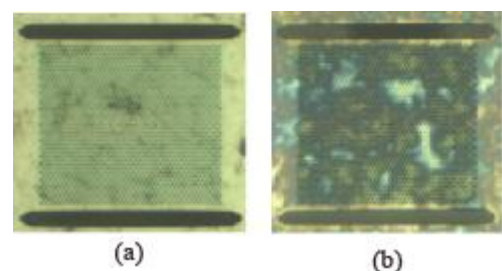


図 2 実験後のデバイスの表面状態. (a) 超純水測定後, (b) 0.1 EU/ml 測定後.