

## ペルオキシダーゼとナノ光重合を利用した 抗原抗体反応のレーザー検出

### Laser detection of antigen-antibody reaction using peroxidase and nanophotopolymerization

阪大院・工, °井村 修平, 吉川 裕之, 民谷 栄一

Osaka Univ., °Shuhei Imura, Hiroyuki Yoshikawa, Eiichi Tamiya

E-mail: imura@ap.eng.osaka-u.ac.jp

近年、医療診断や食品の安全管理、環境モニタリング等のための迅速・高感度かつ小型で簡便なバイオセンシングシステムの開発が求められている。我々は集光レーザービームによる *o*-フェニレンジアミン(*o*-Phenylenediamine: *o*-PD)のナノ光重合反応を利用して、西洋わさびペルオキシダーゼ(Horse Radish Peroxidase: HRP)酵素反応を検出する新しいバイオセンシング法の開発に取り組んでいる[1]。本発表では HRP 標識抗体を利用した抗原抗体反応の検出について報告する。

アミノシラン処理を施したガラス基板に IgG 抗体を固定化し、ブロッキング後、HRP 標識抗 IgG 抗体溶液と 30 分間反応させた。HRP と基質を含む *o*-PD 溶液にグリーンレーザー光を集光すると *o*-PD の酸化反応生成物であるジアミノフェナジン(Diaminophenazine: DAP)がレーザー光を吸収し、ポリ *o*-PD ナノ構造体が形成される。ナノ構造体の形成速度が基質濃度に依存するため、後方散乱光強度の時間変化から基質濃度を定量できる。Fig1 は *o*-PD/DAP 溶液と過酸化水素の混合溶液を 1 分間反応させた後に基板にレーザーを集光し、後方散乱光強度を測定した結果である。照射時間とともに散乱光強度が変化し、HRP 標識抗 IgG 抗体濃度が高いほど散乱光強度がより早い時間に極大値をとることがわかる。Fig2 に示すように散乱光強度のピーク時間から HRP 標識抗 IgG 抗体濃度を定量できる。現在さらなる高感度化を目指して抗体固定化法や測定条件の検討を行っている。

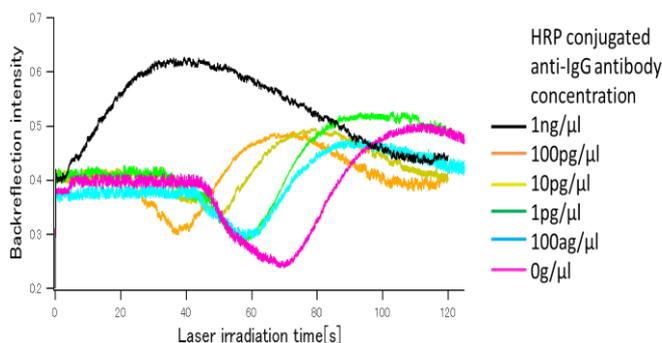


Fig1 : Temporal changes of the backreflection intensity at different concentrations of HRP conjugated anti-IgG antibody

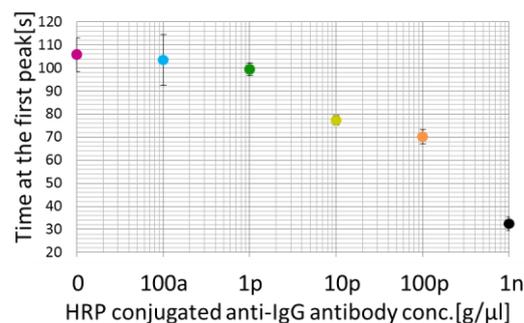


Fig2 : The relation between time at the first peak of backreflection intensity and HRP conjugated anti-IgG antibody concentration

[1] Hiroyuki Yoshikawa, Shuhei Imura, and Eiichi Tamiya, *Anal. Chem.*, **2012**, *84*, 9811–9817