

酵素・抗体修飾チップを用いた光ピックアップ型バイオセンシング Optical pickup biosensing with sensor chips immobilized with enzymes and antibodies

○吉川 裕之、井村 修平、芳永 真、廣納 麻美、民谷 栄一 (阪大院工)

○Hiroyuki Yoshikawa, Shuhei Imura, Makoto Yoshinaga, Asami Hironou, Eiichi Tamiya (Osaka Univ.)

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

【序】タンパク質バイオマーカーを用いた検査・診断は、予防医療、早期診断、急性期医療などにおいて有用であり、安価で小型の装置を用いた極微高感度検出技術が求められる。広く用いられているELISA法は感度や特異性に優れるが、抗体に標識された酵素の呈色反応に基づく吸光度変化を測定するため、サンプル量(光路長)を必要とし、測定装置を構成する光源、分光器、検出器などが大型で高価になる。このような問題点を克服する新手法として、我々はレーザー集光点で誘起される α -フェニレンジアミン(oPD)の局所光重合反応を利用した光ピックアップ型バイオセンシングについて研究している [1]。本研究では酵素や抗体を修飾した小型センサーチップを作製し、グルコースやタンパク質バイオマーカーの高感度検出に取り組んだ。

【実験・結果】顕微鏡用カバーガラス上にグルコースオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ(HRP)、oPDをドロップキャストし、グルコース測定用センサーチップを作製した。また、カバーガラスにポリスチレンをスピコートし、捕捉抗体の修飾とブロッキングを行い、タンパク質バイオマーカー測定用センサーチップとした。グルコースセンサーチップ上に濃度の異なるグルコース溶液を10 μ L滴下し、波長532nmのレーザー光を集光して反射光強度の時間変化を記録した。グルコース濃度が高いほど、レーザー反射光が短時間に大きく変化し、この変化量を数値化することによりグルコース濃度を定量することが出来た。また、炎症や造血、動脈硬化と関係するサイトカインであるヒトIL-6(インターロイキン6)を測定するため、Anti-IL6抗体を修飾したセンサーチップを作製した。濃度の異なるヒトIL-6溶液および検出用のHRP標識抗体と反応させたのちにoPD溶液を滴下し、同様のレーザー反射光測定を行った。図1に示すように、300 pg/mL、150 pg/mLと、IL-6を含まないコントロール試料の間において、反射光強度変化に明瞭な差が見られた。コントロールは7300 pg/mLのIgGタンパクを含むが、反射光強度変化は見られず、IL-6を特異的に検出できた。

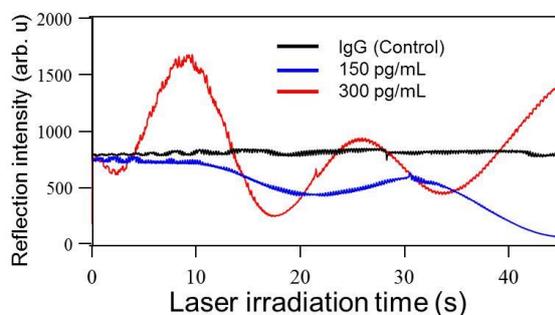


Fig. 1 Temporal changes of laser reflection intensities

謝辞：本研究は、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団の支援を受けました。

1) H. Yoshikawa et al. *Analytical Chemistry*, 2012, **84**, 9811; *RSC Advances*, 2015, in press.