

## 局所光重合反応を利用した高感度バイオマーカー検出

### Sensitive biomarker detection using a local photopolymerization

○吉川 裕之、井村 修平、民谷 栄一（阪大院工）

○Hiroyuki Yoshikawa, Shuhei Imura, Eiichi Tamiya (Osaka Univ.)

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

【序】血液、尿、唾液等に含まれ、疾病や健康状態の指標となる生体内化合物やタンパク質、いわゆるバイオマーカーに基づく検査・診断は、予防医療、早期診断、急性期医療などにおいて重要視され、安価で小型の装置を用いたバイオマーカーの極微高感度検出の必要性は極めて高い。バイオマーカーを特異的かつ高感度に検出するELISA法では、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）を必要とする。蛍光測定は微量試料に対して有用であるが、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。近年我々は、ペルオキシダーゼ酵素の発色基質として知られる *o*-フェニレンジアミン(*o*PD)溶液にレーザーを集光すると、集光点にナノ構造体が形成してレーザー反射光が変化する現象を見出し、この原理を利用したグルコースの迅速高感度検出が可能であることを示した (H. Yoshikawa et al. *Analytical Chemistry*, 2012, **84**, 9811)。本研究ではこの独自技術を、酵素標識抗体を利用したバイオマーカー分子の極微高感度検出に展開し、感度や定量性などの評価を行った。

【実験・結果】測定には、ペルオキシダーゼ酵素標識二次抗体を用いた、各種バイオマーカーの市販のELISAキットを利用した。マイクロプレート上の固相化抗体と濃度を調整したバイオマーカー分子を反応させ、さらに酵素標識二次抗体を結合させた。この基板に *o*PD 溶液を滴下し、およそ 20 分後に溶液 10 $\mu$ L をガラス基板上に滴下し、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測定した。反射光強度が変化するまでのレーザー照射時間と、バイオマーカー濃度の関係を調べ、感度や定量性を評価した。一例として、C-反応性タンパクの測定結果を図 1 に示す。比較のため、各 ELISA キットに付属の発色試薬を利用した従来型吸光度測定による定量も行い、十分な感度と定量性が得られていることを確認した。本手法はレーザー集光点で局所的に誘起される光重合反応を利用しているため、極微量試料に対するバイオマーカーの高感度検出技術として有用であることが示された。

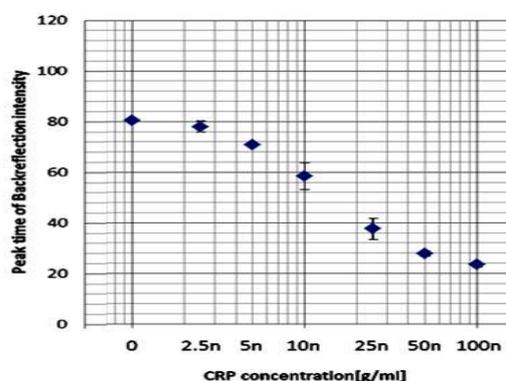


Fig. 1 CRP concentration vs laser reflection signal

謝辞：本研究は、文部科学省/JST のグローバルアントレプレナー育成促進事業（EDGE プログラム）の一環として実施された、大阪大学 LLP ギャップファンドの助成を受けた。