

グラフェン上でのオープンサンドイッチ免疫測定法による 低分子ペプチドの検出

Bio-sensing of small peptide by open sandwich immunoassay on graphene

阪大産研¹, 東工大化生研² ○金井 康¹, 大室 有紀², 小野 亮生¹, 井上 恒一¹, 上田 宏²,
松本 和彦¹

ISIR Osaka Univ.¹, Lab. Chem. Life Sci., Tokyo Tech.², °Yasushi Kanai¹, Yuki Ohmuro-Matsuyama², Takao Ono¹, Koichi Inoue¹, Hiroshi Ueda², Kazuhiko Matsumoto¹,

E-mail: kanai@sanken.osaka-u.ac.jp

グラフェンは表面状態の変化に対して電気特性が大きく変化することから、高感度なセンサとしての応用が期待されており、実際に抗原抗体反応の検出などが行われている。しかしながら、グラフェン表面に吸着した際にグラフェンの電気特性をあまり変化させない物質の場合、そのまま検出することは難しい。そこで、本研究ではオープンサンドイッチ免疫測定法に着目した。一般的な抗原抗体反応は、1対1の反応であるが、オープンサンドイッチ法は一つの抗原に対し結合する2つの抗体断片(V_HとV_L)による反応である。片方の断片に電荷を持たせることで、単体では検出しにくい抗原の高感度な検出が期待できる。本研究では、片方の抗体断片(V_H)を予めグラフェン状に修飾しておき、もう片方の断片(V_L)に電荷を持たせることによって、抗原である低分子ペプチド(骨代謝マーカーであるオステオカルシンの部分ペプチド)の検出を行った。

図1に作製した試料と行った実験の模式図を示す。作製した試料に対して、負の電荷を持つAPP(アミロイド前駆体タンパク質由来超酸性領域)を融合したV_Lを一定の濃度に保ちながら、抗原性を持つサンプル(BGP-C7)と抗原性を持たないサンプル(BGP-C10dv)をそれぞれ濃度を変化させながら、グラフェンを流れる電流(I_d)を測定した。Fig. 2、3はC7あるいはC10dvを滴下しながら電流を測定した結果を示す。高濃度のC7を滴下すると電流値が正に変化していることから検出されていることがわかる。逆に、非抗原性のC10dvでは滴下に対して、ほとんど変化していないことからグラフェン上に吸着していないことがわかる。これらの結果から、グラフェン上でオープンサンドイッチ原理により低分子ペプチド抗原を特異的に検出できたと考えられる。

【謝辞】本研究は、JSTCRESTの支援を受けたものである。

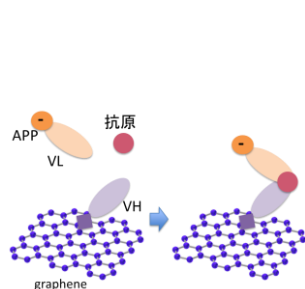


Fig. 1 Schematic image of the open sandwich immunoassay on V_H modified graphene.

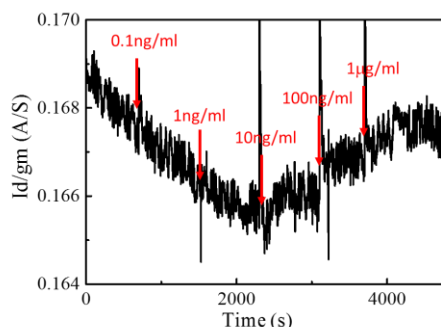


Fig. 2. Time course of Id/gm at V_D of 0.1 V for V_H modified graphene at various concentration of BGP-C7.

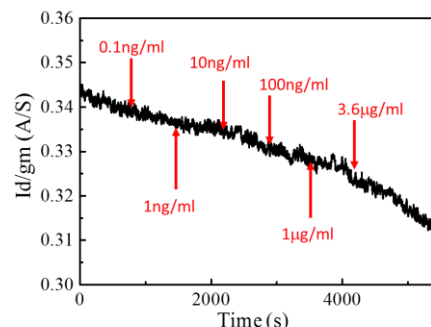


Fig. 3 Time course of Id/gm at V_D of 0.1 V for V_H modified graphene at various concentration of BGP-C10dv.