

唾液中コルチゾールを検出する EIS 型バイオセンサの研究

Study of EIS biosensors for detecting cortisol concentration in saliva

東京海洋大¹, NIMS², ライオン株式会社³○森慶太郎¹, 柴田恭幸¹, 呉海云¹, 遠藤英明¹, 津谷大樹², 丸山由貴³, 大貫等¹Tokyo Univ. of Marine Sci. & Tech.¹, National Inst. for Materials Science², Lion Co.³○K. Mori¹, T. Shibata¹, H. Wu¹, H. Endo¹, D. Tsuya², Y. Maruyama³, H. Ohnuki¹

E-mail: m214018@edu.kaiyodai.ac.jp

【はじめに】

コルチゾールはストレスに応じて血中や唾液中の濃度が上昇するためストレスホルモンとして知られている。この濃度を日常的に検出することで、ストレスに起因した様々な病気の未然予防につながる。本研究では、手軽に採取できる唾液中のコルチゾール濃度を電気化学インピーダンス (EIS) 法で簡易且つ高感度に測定する技術の確立を目指す。具体的には、高い再現性を持つ平行平板電極の表面上で抗原抗体反応を引き起こし、反応前後の電荷移動抵抗の変化を EIS で測定することで、標準試料及び唾液中のコルチゾールの濃度定量を行う。これまでに本手法による測定は従来の標準法である ELISA 法と近い精度を示し、抗原抗体反応は 5 分間要することが判明している。今回は本センサを用いた夾雑物に対する選択性およびアドミタンスによる高精度解析法について報告する。

【実験方法】

テンパックス基板上に作用極として直径 2 mm の円形 Au パターン電極を蒸着し、電極の縁を厚さ 5 μm の SiN で覆った。同様に対極として直径 3 mm の Au 電極パターンを蒸着し、その縁を 5 μm の SiN で覆った。これら 2 枚の電極を重ね合わせることで 10 μm のギャップを持つ平行平板電極を形成した (Fig.1)。電極をピラニア洗浄した後、電極上に自己組織化単分子膜 (SAM) を成膜した。成膜後に、抗コルチゾール抗体を化学結合させ、ブロッッキング処理を行いコルチゾールセンサとした。

作製したセンサを用いて、コルチゾールと構造が近いプロゲステロン、唾液中に含まれるメラトニンに対して EIS 測定を行い、選択性を確認した。尚、抗原抗体反応時間は 35 $^{\circ}\text{C}$ の恒温槽内で 5 分間行った。

【結果】

各物質に対する信号の比較を Fig.2 に示す。この結果から、本センサにはコルチゾールでは抗原抗体反応による大きな変化が見られるが、プロゲステロンとメラトニンに対しては変化が小さく、非特異吸着の寄与が少ないことがわかる。そのため、本センサは唾液など多くの夾雑物質を含む検体中においてもコルチゾールのみを検出できることが確認できた。

抵抗値 R の解析とその逆数のアドミタンス G の解析比較を Fig.3 に示す。左縦軸はアドミタンスの変化率、右縦軸は

抵抗の変化率、横軸は抗体の被覆率を示す。ここでは対数濃

度が抗体の被覆率に対応していると考えている。従来の解析法では抵抗が被覆率と線形対応しているとして解析されてきたが、物理的にはアドミタンス解析が妥当である。再現性の高い平行平板電極では後者の方がより精度の高い解析が可能であることが示唆された。詳細については、講演で議論する。

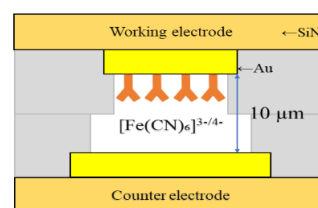


Fig. 1 Structure of parallel plate electrode

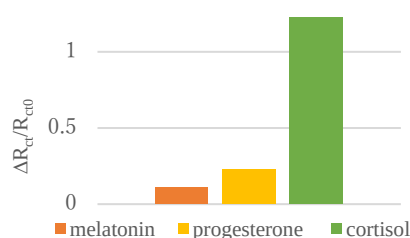


Fig. 2 Cross-reactive study

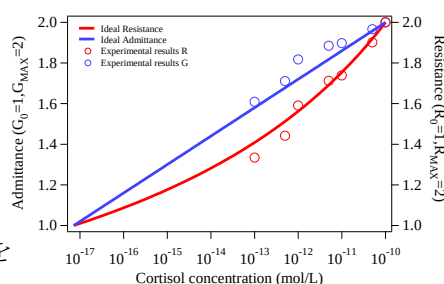


Fig. 3 Comparison between R and G results