

表面濃縮型免疫測定法によるマイクロ分析デバイスの開発

はじめに

これまでにさまざまなマイクロ分析デバイスが提案され、血液や尿に含まれるタンパク質やペプチドなどを迅速に検出できることが報告されています。これは、マイクロ分析デバイスの微小流路内では比表面積がバルクでの測定に比べ著しく大きい（試料体積に対する検出部面積が大きい）ため、酵素反応や抗原抗体反応が高効率に行われることによります。しかし、これまでの検出法をそのまま微小化しても、測定法によっては十分な感度が得られないという問題があります。そこで、私たちは表面反応を利用して、マイクロ分析デバイスに適した新規測定法を考案し、そのマイクロ分析デバイスへの適用を行っています。

表面濃縮型免疫測定法

チオール基をもつ分子は、金に強く吸着し緻密な単分子膜を形成することが知られています。そこで、私たちはチオールの一種であるチオコリンを生成する酵素（アセチルコリンエステ

ラーゼ）を用いた表面濃縮型の酵素免疫測定法を提案しています。図1は、電気化学発光により検出する表面濃縮型免疫測定法の模式図を示しています。基質としてアセチルチオコリンを導入すると、酵素標識抗体により加水分解されチオコリンが生成します。このチオコリンを金-チオール吸着を利用して金電極表面に回収し、濃縮膜を形成させます。その後、この金電極をルテニウム錯体中で酸化した際の発光強度を測定します。チオコリンの量が多いほど明るく発光するため、発光強度から目的分子の濃度を知ることができます。

図2は、表面濃縮型免疫測定法を表面プラズモン共鳴法により測定した際の装置およびマイクロ分析デバイスの写真です。すべての反応（抗原抗体反応、酵素反応、チオコリン濃縮）を微小流路内で行うことにより、高効率に

反応を完了することができ、pg/mL程度の低濃度ペプチドでも30分で計測できます。

最後に

マイクロ分析デバイスに適する、表面反応を利用した免疫測定法とマイクロデバイスを紹介しました。この方法は、これまでの吸光測定や発光測定のように光路長に依存することがないために、微小化することによる感度の低下はありません。むしろ、回収率向上や線流速上昇によって高感度に測定可能であり、微小空間の特徴を活かした有効な測定法です。

バイオメディカル研究部門
くりた りょうじ
栗田 僚二

参考文献

- [1] R. Kurita *et al.*: *Analytical Chemistry*, 82, 1692-1697 (2010).
- [2] R. Kurita *et al.*: *Analytical Chemistry*, 78, 5525-5531 (2006).

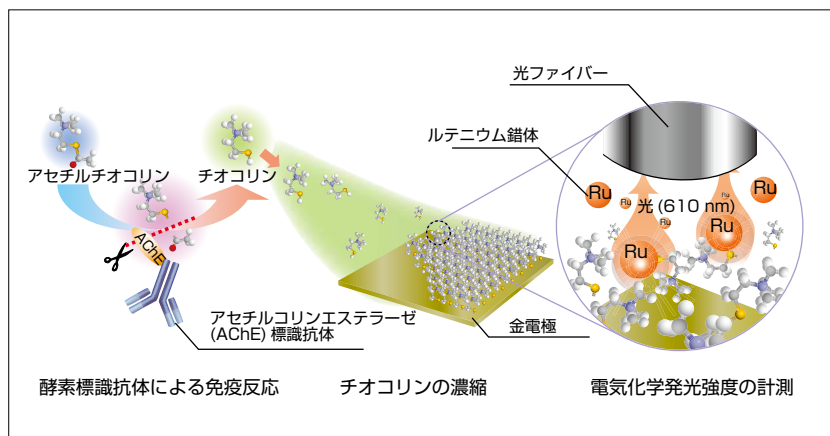


図1 電気化学発光により検出する表面濃縮型免疫測定法の模式図

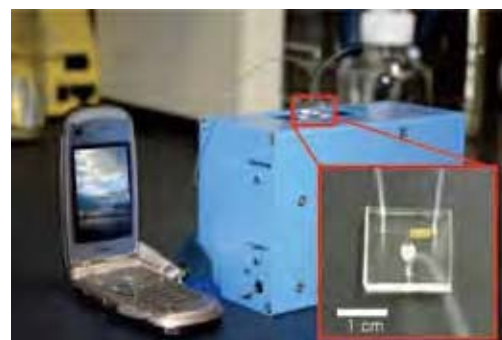


図2 小型表面プラズモン共鳴測定器とマイクロ分析デバイス（右下）の拡大写真