

グローバルCOE特別セミナー

日時： 2009年7月30日（木）
14：00～15：30（予定）

会場： 未来技術流動研究センター
9階 セミナー室
（総合研究実験棟 9階 903室）

講演者：

兵庫県立大学大学院物質理学研究科 物質反応解析 部門化学分析学分野
教授 水谷文雄 先生

「POCT と高感度免疫センサ」及び「酵素・抗体固定化法の紹介」

准教授 安川智之 先生

「誘電泳動を用いる微粒子操作技術の免疫測定への応用」

問い合わせ： G-COE推進室（内線：5341.5342 橋詰, 小林, 杉浦）

グローバルCOE推進室

「POCT と高感度免疫センサ」及び「酵素・抗体固定化法の紹介」

兵庫県立大学・大学院物質理学研究科 水谷文雄

バイオセンサは簡便な計測ツールであり、ベッドサイドでの健康診断、空港での危険物の検知など、「その場」での利用に適している。一方、腫瘍マーカーセンサやバイオテロ防止用のセンサ等を考えた場合、pg/mL レベルの対象物質の測定が必要不可欠となる。簡易なセンサシステムでのノイズレベルの低下は容易ではないので、信号レベルを大きくするための手法の開発が重要となる。我々は酵素免疫測定において、標識酵素活性を高感度に測定するための化学増幅技術の開発・利用を進めているので、紹介する。

1) サイクリックな反応の利用：アルカリ性ホスファターゼ(AIP)活性は、AIP 反応で生成した *p*-アミノフェノールを電解酸化するときの電流から測定できる。電解酸化によりキノニンイミンが生成するが、グルコース酸化酵素の触媒反応、グルコース+キノニンイミン→グルコノラクトン+*p*-アミノフェノールによって *p*-アミノフェノールを再生させ、この酸化/再生のサイクルを繰り返させることにより、電流は著しく増幅される。この結果、従来法の 1/100 程度の AIP が定量できるようになり、我々はこの方法を利用して 2 pg/mL 以下の心疾患マーカーANP の酵素免疫測定に成功している。

2) 物質、電荷の蓄積：電極表面に酸化還元活性種を蓄積させて、それを迅速に参加あるいは還元させれば、高感度化が可能となる。例えば、アセチルコリンエステラーゼ(AChE)はアセチルチオコリンの加水分解によりチオコリンを生成する反応を触媒するが、生成したチオコリンは金表面に化学吸着(濃縮・蓄積)する。これを電解還元法あるいはSPR法により検出すれば、従来法の 1/100 程度の AChE が定量できる。我々はこのような蓄積法を心疾患マーカーBNP、腎臓病のマーカーであるインスリン、腫瘍マーカーのジアセチルスペルミンの免疫測定に応用している。

バイオセンサを構築するには酵素などを簡便かつ高活性に固定化するための技術が必要である。我々が開発した修飾酵素の利用、ポリオンコンプレックス法などの固定化法の開発結果についても紹介する。

誘電泳動を用いる微粒子操作技術の免疫測定への応用

兵庫県立大学・大学院物質理学研究科 安川智之

誘電泳動 (DEP) 現象は微粒子や細胞の操作駆動力として利用され、マイクロ流路内における細胞の分離、ナノ微粒子や生体分子 (DNA およびタンパク質) の集積化等に応用されている。我々は、誘電泳動による微粒子の操作技術を迅速で簡便な免疫測定法へと応用している。交互くし型バンドアレイ電極と基板を対向させて配置したデバイス内に微粒子を導入しアレイ電極に交流電圧を印加すると、マイクロ空間に不均一交流電場が発生し微粒子を基板上に配列させることが可能である。この配列は交流電圧の印加を停止すると誘電泳動による規制力を失い微粒子は再分散状態に戻る。この分散現象に着目し微粒子と基板間に免疫反応を組み込むことにより極めて迅速 (2 分程度) で簡便な免疫測定法を開発を行った。サンドイッチ型免疫測定法の場合、抗体を固定化した微粒子を抗体固定化基板間に集積化させ、免疫反応により基板に捕捉される微粒子の数が分析対象物質濃度を反映する。このシステムでは、未反応微粒子は基板から再分散するため洗浄工程 (BF 分離) を必要としないという利点をあわせ持つ。現在、電気化学的な検出法を組み合わせ、高感度、迅速、簡便な免疫測定システムの開発を行っており、合わせて紹介したい。