

Title	Lab on paper技術による酵素増幅型電気化学イムノセンサの自動化
Author(s)	山口, 恵人
Citation	
Issue Date	2025-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/19877
Rights	
Description	Supervisor: 高村 禪, 先端科学技術研究科, 修士 (マテリアルサイエンス)

Lab on paper 技術による酵素増幅型電気化学イムノセンサの自動化

山口 恵人(高村禪研究室)

【背景】

感染症などの検出においては、紙基板を用いた Lab on paper 式の検出法が用いられることがある。しかしながら定量性は低い。そこで我々は①定量性が高い電気化学的測定法と②簡便性・迅速性を持つ Lab on paper 技術を組み合わせることで、その二つが持つ利点を持ち合わせた測定法の開発を目指した。本研究ではメンブレン上で、(1)過酸化水素、(2) グルコースオキシダーゼ(god)標識抗体、(3) アルカリホスファターゼ (ALP) 標識抗体の検出を目的とした。

【実験方法】

紙基板となるメンブレン(GE Healthcare 社製)を 5.5mm 幅に切り分けた。以下の条件で測定を行った。(1)メンブレン上で H_2O_2 のみを検出した。(2)メンブレン上で god 標識抗体 (Ab) を反応させ生じた H_2O_2 を検出した。(3)メンブレン上で PNPP と ALP 標識 Ab を反応させ生じた PAP を検出した。反応液には 0.4%Bovine Serum Albumin (BSA)を添加し非特異吸着を抑制した。電気化学測定は DPV を採用した。固定用の治具は 3D プリンタで作製しクリップで固定した。

【結果と考察】

(1) メンブレン上に H_2O_2 を流し、それを Dep-Chip を用いて DPV した結果を図 1 に示す。この結果、1.2V 時の電流値が 100uM の方が大きかった。このことから DPV によって、メンブレン上で、100 μ M の過酸化水素の検出が可能なのが解った。この濃度は検体を評価するうえで十分な濃度である。

(2)グルコースのみ、ab-god のみ、グルコースと ab-god をメンブレン上で反応させた場合の 3 種類について、メンブレン上で DPV 測定を行った結果を図 2 に示す。Ab-god のみの場合では、グルコースが無いにも関わらず、大きな電流が流れている。これは用いた ab-god 液に電気化学活性の高い不純物が含まれているからと考えられ、この系では、低い検出限界の達成が困難であることが解った。

(3) メンブレン上で PNPP と ALP 標識 Ab を反応させた結果を図 3 に示す。こちらも混入物からのバックグラウンドノイズが大きいが、ALP-ab(ALP1~3)、もしくは抗原を捕捉した ALP-ab が含まれたもの(ABC1~3)は、含まれてないもの(BSA1~3)に比べ明らかに信号が大きく、検出が可能であることが分かった。

【結論】

ALP 標識抗体と PNPP 基質を用いてメンブレン上で抗原抗体反応の電気化学的手法による計測に成功した

(参考文献) 1.S.Charenrchai, et al., Anal. Chem, 2022 ,2.N.Larpant, et al, Sensors, 2021

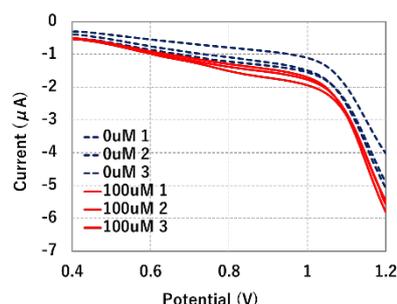


図1. 過酸化水素の測定結果

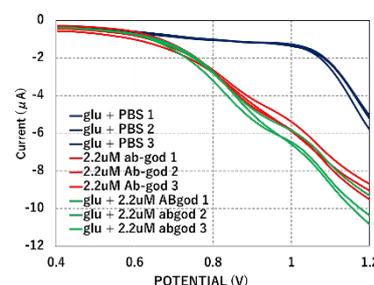


図2. グルコースオキシダーゼ反応の測定結果

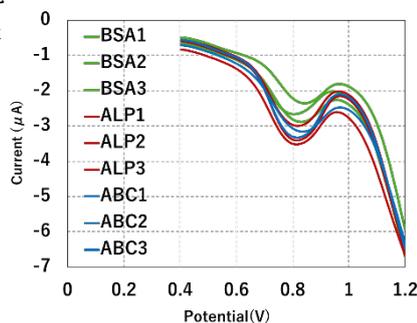


図3. ALPとPNPPの反応の測定結果