

平成21年5月22日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2009

課題番号：18550079

研究課題名（和文） 不妊症診断・治療のための
迅速簡便な唾液中ホルモン一斉分析システムの開発研究課題名（英文） Development of a System of Total Analysis of Hormones in Saliva
for Diagnostics and Treatment of Sterility

研究代表者

荒井 健介（ARAI KENSUKE）

日本薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：10266885

研究分野：薬品分析化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：マイクロナノデバイス、マイクロアレイ、蛍光検出、ELISA、ホルモン、マイクロチャンネル、唾液、診断

1. 研究計画の概要

本研究の目的は、高感度検出試薬固定化マイクロチップ技術を用いて、多項目の性ホルモン検査を一つの装置内で行える一斉分析システムを開発することである。本分析システムの原理は、複数の抗体試薬を一つのマイクロチャンネル内にあらかじめ固定化し、微量の試料がチャンネル内を通過する際に複数の抗体とわずか数分の間に反応完結し、高感度蛍光検出系によって検出するというものである。これに基づいて、研究計画を以下の6項目に分類した。

- (1) 分離・発色系の検討（抗原抗体反応、酵素反応、蛍光反応、感度・精度・再現性）
- (2) 蛍光検出技術の検討（光源・レンズ・フィルター・CCDなど光学系の選択、データ処理法）
- (3) マイクロチャンネル設計・作製（材質、サイズ、エッチング、固定化技術、インターフェイス）
- (4) 試料導入方法（採取チップ、前処理、送液）
- (5) 試作機の作製（モジュール結合、小型化の試み）
- (6) 実証実験・評価（従来機との比較、実際試料への応用）

2. 研究の進捗状況

- (1) 分離・発色系の検討： 生体成分の高感度かつ簡便な分析法であるELISAを用いた分離検出系により原理検証を行い、試薬の種類や濃度、および溶液のpHなど反応効率を左右する諸条件を最適化し、ホルモンを蛍光検出によって高感度に分離定量で

きることを確かめた。

- (2) 蛍光検出技術の検討： マイクロチャンネル内で生じた蛍光試薬からの発光を効率・精度良く捕捉するために、倒立型蛍光顕微鏡と高感度CCDカメラを組み合わせた測定系を構築し、チャンネルの蛍光画像を精度良く撮影するための諸条件を決定できた。
- (3) マイクロチャンネルの設計・作製： マイクロチャンネルの材質や形状を設計し、エッチングの諸条件を最適化することで、任意の流路のマイクロチャンネルを作成できた。マイクロチャンネルを組み込んだガラスとPDMSとの複合チップに試料溶液、反応試薬溶液、洗浄液を送液するためのインターフェイスについて検討し、高精度のマイクロシリンジポンプにより最適な送液条件を明らかにした。さらに、蛍光標識したタンパク質をモデル化合物として、すでに開発済みの反応試薬固定化手法によって、マイクロチャンネル内に固定された蛍光標識試薬を精度良く検出できることを確認した。
- (4) 試料導入方法： 多項目検査チップとのインターフェイスの容易な唾液採取法について検討したが、市販の唾液採取器具により試料を回収する方法が最も簡便かつ有望であることが分かった。
- (5) 試作機の作製： 個々に開発したマイクロチャンネルチップ、試料採取チップ、光学系、送液系などの機能モジュールを組み合わせた分析システムの試作を目指し、構造や材料などの設計に着手した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

当初計画課題(1)～(5)はいずれも予定通りにクリアしている。

4. 今後の研究の推進方策

次年度は、計画のうち(5) 試作機の作製（モジュール結合、小型化の試み）と(6) 実証実験・評価（従来機との比較、実際試料への応用）を精力的に実施し、ホルモニー斉分析システムの構築を行う。

5. 代表的な研究成果

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）