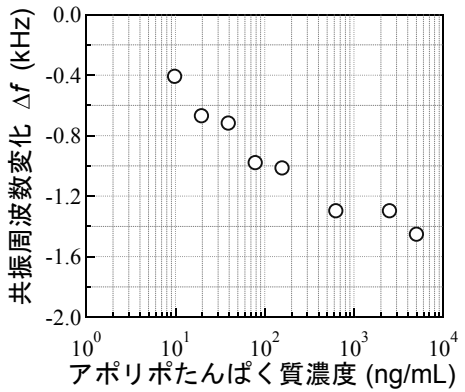
研究概要報告書 【サウンド技術振興部門】

（　/　）

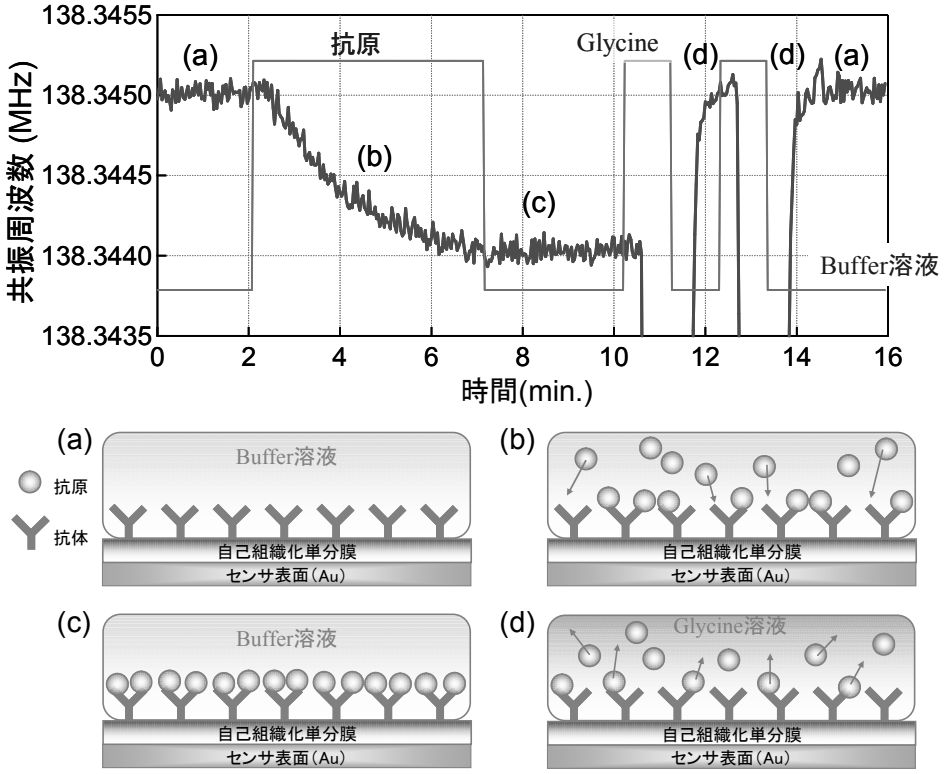
| | | | |
|---|---|---|---|
| 研究題目 | 薄膜自立構造の音響共振周波数変化による高感度抗原抗体反応検出 | 報告書作成者 | 柳谷隆彦 |
| 研究従事者 | 柳谷隆彦 | | |
| 研究目的 | 近年の医療費は増大の一途を辿っており、既に国民所得の10％大きく超えている。医療費低減には、健康管理を在宅で行える予防医療システムの普及が急務である。しかし、高度な検査装置は大型で使用者の負担が大きく、システム普及の妨げとなっている。そのため特に検査機器レイヤーにおいては、“エンジニア”主導のイノベーションが期待されている。<br><br>当然のことながら検査方法は低侵襲でなければならず、同様の侵襲的検査に比べて性能が要求され、大型化傾向にある。在宅医療システムには、相反する「携帯性」と「低侵襲」の両立が重要である。本研究では、この両立に的を絞った検査用の生体物質高感度センサの実現を目的としている。具体的には、独自の横波音響薄膜共振子を用いて、高感度な病変マーカの抗原抗体反応検出を目指す。<br>水晶などの音響共振子に分子が付着した際，その質量負荷により共振周波数が低下する現象が知られている。この原理を用いたセンサの感度は音響共振子の質量と付着分子の質量の比で決定されることから、共振子自体の質量が減れば感度が上がる．そのためには付着面積をかせぐと，共振子の重さを減らすには厚さを減らすしかなく、究極的には薄膜化すれば最も感度が良くなる。<br><br>以上の背景から、高感度化を目指した薄膜型の共振子型センサが注目されている。しかしこれらのセンサは高感度だが縦波モードで共振するため液体中では動作できず、使用が気体中に限られるという問題点があった。この高感度センサを用いて尿や血液中の病変マーカを検出するには、液体中で動作可能な横波モードの薄膜共振子が必要である。<br><br>こうした中、高速イオンビームを照射しながら結晶を成長させることで、初めて横波音波発生可能な平行配向膜の合成に成功している。さらに、世界初の横波モード音響薄膜共振子も実現している。高感度化を目指して、抗体の流路とセンサ部分が一体となったフローセル型センサシステムを構築を目指す。 | | |

研究概要報告書 【サウンド技術振興部門】

（　/　）

| | |
|---|---|
| 研究のポイント | これまで実際に横波音響共振子センサを作製し、リスクマーカの抗原抗体反応の検出を試みている。動脈硬化のリスクマーカであるアポリポたんぱく質 A-II（Apo A-II）を入手し（京都府立大学提供）、実験を行っている。この Apo A-II の検出基準範囲は男性で 259～357 μg/mL、女性で 246～333 μg/mL である。<br>まずセンサ表面に抗体を装荷する。この抗体と検出対象である抗原が反応し、抗原付着による質量付加に伴う共振子の音響共振周波数低下を測定する。すなわち、この共振周波数低下量は抗原の量に比例することになる。これまで、20 μg/m 抗原を導入した際ついては、リスクマーカ抗原抗体反応に起因する音響共振周波数変化検出に成功している。フローセルシステムを構築し、さらに低濃度の領域について、複数の実験を行った。 |
| 研究結果 | 右図に抗原濃度を 0.001～10 μg/mL の範囲における抗原濃度と共振周波数の変化量の関係を示す。抗原濃度が高くなるにつれて、共振周波数が低下していることがわかる。この結果から、あらかじめ抗原濃度-$\Delta f$ 曲線を取得しておけば、抗原濃度を評価できることを示している。1 μg/mL 以上の高濃度範囲では、濃度に対する$\Delta f$ の変化が、低濃度範囲に比べて小さくなっていることがわかる。これは抗原量がセンサ表面に吸着できる許容量に達したためが考えられる。複数回の実験を行い、このセンサの検出限界を評価したところおおよそ 0.01 μg/mL であり、目標検出濃度の 1 μg /mL を大幅に下回っていることがわかっている。<br>  |
| 今後の課題 | この方式では、現存の免疫蛍光法、放射免疫分析法(RIA)等の分析法と比べて標識抗体が不要でかつ、質量付加をリアルタイムでモニタリングでき、リスクマーカの吸着・解離速度を測定することができる。測定周辺回路やシステムも簡単で、従来の大型分析装置に比べると大幅にコストダウンでき、個人消費者に普及可能である。この方式ではセンサチップは使い捨てが前提となるが、従来 QCM とは異なり、本研究の横波薄膜共振子方式は4インチウエハから500個以上で採取可能であり、コスト面においても有利である。下に他方式との比較を示す。薄膜共振子はシリコンウエハ全面に安価に量産することができるため、かつセンサ駆動ICや流路とのワンチップ化も可能である。本研究の横波共振子は唯一液体中で動作する薄膜共振子型センサであり、ヘルスケア分野のみならず、環境汚染に関係する化学物質の測定や電気化学センサなどへも応用できる。 |

Apo(A-II)の濃度が 78 ng/mL 抗原溶液を送液した際の、共振周波数変化の計測結果（センサグラム）とセンサ表面状態の模式図を下図に示す。
下図(a)に示すように、抗体のみをセンサ表面に固定化した場合の共振周波数を基準とする。抗原溶液を送液すると、下図(b)のように抗原と抗体の選択的な結合による質量付加により、共振周波数が低下する。その後、下図(c)のように再度 Buffer 溶液を送液することにより、センサ流路から抗原溶液が排出される。このとき抗原抗体の結合は切れず共振周波数は変化しない。またその後下図(d)のように Glycine-HCl 溶液を送液すれば、抗原抗体結合が解離し、センサを再生させることができる。この例では再生液を二回送液している。送液時、Glycine-HCl溶液の粘性により、共振周波数が急激に減少する。最後に、再びBuffer溶液を送液することで、共振周波数は基準値に戻る。状態(a)と状態(c)の周波数差$\Delta f$を抗原の吸着による変化量として見積もることができる。




（注:フローチャート図, ブロック図, 構成図, 写真, データ表, グラフ等 研究内容の補足説明にご使用下さい。）