

## 兵庫県COEプログラム推進事業 研究結果概要

### 研究プロジェクトの概要

研究プロジェクト名	放射光3次元ナノプロトタイピングを用いた 超高感度ELISAマイクロ環境分析システムの開発
代表機関	株式会社日本技術センター
共同研究チーム構成機関	兵庫県立大学、兵庫県立工業技術センター
研究分野	エコ(環境・エネルギー)分野、ナノテクノロジー(超微細加工技術)分野

### 研究結果の概要

#### 【 研究プロジェクトの概要、特色】

マイクロ化学チップによる酵素免疫法(ELISA法)を用いた超高感度の環境分析システムの開発を行う。従来のチップは全て2次元平面内に流路構造が展開しているために集積化に限界があり、抗体固定化のスペースも限定されているために高感度化が図りにくいという課題があった。本研究は、放射光を用いた3次元加工法で作製した3次元流体構造を用いることにより、従来の課題を解決したシステムを実現することを目的とする。さらに海底への汚染・蓄積が進む内分泌攪乱化学物質であるアルキルフェノール類や毒性の強いニトロフェノール系農薬等への分析検討を行い、その有用性を実証する。

#### 【 研究の成果】

超高感度の環境分析システムのプロトタイプとして、3次元マイクロ流路を用いた遠心送液法の検討を行なった。基礎検討を行なうデバイスとして、3インチCD型のデバイスを設計・試作し遠心送液特性を確認した。デバイス外周部からの送液特性が最内周で900rpm、最外周では1600rpmで送液されることが判り、遠心送液による単位操作の自動的制御が実証された。さらにPMMA製キャピラリーの集合構造の内壁表面に抗体を固定化し、垂直型マイクロリアクター内で競合法ELISAによりノニルフェノールの分析を行なった。その結果、0.1ng/ml~100ng/mlの範囲で良好な検量線の作製に成功し、環境省が定めるノニルフェノール測定下限値である、GC/MS分析レベルの0.1µg/lを二桁も上回る検出感度を得た。従来のタイトプレートを用いたELISA法と比較しサンプル量の削減と反応時間の短縮(1/3)に成功した。さらに3検体の集積化マイクロリアクターでは同時分析の結果、一度の操作で良好な検量線を得ることに成功した。

#### 【 本格的な研究への展開】

集積化したマイクロ空間を用いて大幅に検出感度が向上した理由としては、1)同一濃度溶液中における抗原反応に関与する抗体数の増加、2)反応に関与する分子拡散時間の短縮、3)抗原の非特異的吸着の抑制等が挙げられる。これらの寄与の定量的な解明には、実際の固定化抗体/抗原/2次抗体間の親和性に反応空間サイズや、抗体を固定化する基板の表面構造・物性等が与える影響を調べ、3次元のナノ~マイクロ空間の免疫応答場における抗原抗体反応の特性抽出とその機構解明が重要である。日本学術振興会の科学研究費補助金事業、JSTの公募事業等の基礎学術分野を対象とした公募に継続的に提案してゆく。

#### 【 今後の事業化に向けた展開】

本プロジェクトの技術基盤とする放射光3次元ナノプロトタイピング技術は、高速DNA解析用の電気泳動解析チップの実現に結びついた実績を有する(NEDO次世代戦略技術実用化開発)。これは唯一本研究所のグループのみに蓄積された技術である。本技術を駆使して、超高感度ELISAマイクロ分析システムの要素部品を具体的に自主開発し、これらで培った設計と製造、評価に関する基盤技術を、環境、医療分野のみならずエネルギーや化学産業等の有力産業分野に発展的に応用してゆく。具体的には、各種の国レベルの各種公募事業に提案し、共同、委託研究を通じその成果を地域企業に活用して頂く。

#### 【 地域的波及効果】(技術基盤強化等の効果、地域社会・経済発展への寄与)

本研究は次世代の医療・環境・食品分析装置や化学合成装置の高付加価値化に必須な要素技術であり、この成果を活用して県内企業に新製品・部品の開発を促す。さらに関連技術の特許取得に向けて取り組む。具体的な共同研究開発を通じて、ナノバイオを指向する県内の各種グリーン産業における、新規事業創出のための技術基盤を提供し、最終的には、病院から個別家庭までの医療総合ユビキタスネットワークを構築するための各種の機器、システムサービスおよび、包括的な環境分析サービス、食品検疫システム等を県内企業が強い競争力を持って全国に提供できる体制を順次目指してゆく。