

課題番号 : F-21-NM-0076  
 利用形態 : 技術代行  
 利用課題名(日本語) : 唾液中コルチゾールを検出する EIS 型バイオセンサの開発  
 Program Title(English) : Development of EIS biosensors for detecting cortisol in saliva  
 利用者名(日本語) : 大貫等  
 Username(English) : H. Ohnuki  
 所属名(日本語) : 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科  
 Affiliation(English) : Tokyo University of Marine Science and Technology  
 キーワード/Keyword : バイオ&ライフサイエンス、リソグラフィ・露光・描画装置、バイオセンサ、唾液

## 1. 概要 (Summary)

体の健康状態を反映するバイオマーカーの定量のため、これまで様々なバイオセンサが開発されてきた。本研究ではより身近な測定を行う目的で、簡易測定可能な電気化学インピーダンス(EIS)法を用いたバイオセンサの開発を行った。さらに、実試料である唾液を検体とする、実用的なセンサの応用を試みた。具体的には、高い再現性を持つ平行平板電極の表面上にストレスホルモンの一種であるコルチゾールを選択的に捉えるコルチゾール抗体を固定化し、ここに吸着するコルチゾールが引き起こす表面抵抗変化を EIS で測定することで定量を試みた。

## 2. 実験 (Experimental)

【利用した主な装置】 125kV 電子ビーム描画装置、超高真空スパッタ装置、高圧ジェットリフトオフ装置、ダイシングソー

### 【実験方法】

NIMS の技術代行にて作製した、電極の縁を厚さ 10  $\mu\text{m}$  の SiN で覆った直径 2 mm の円形 Au 電極(作用極)と、直径 3 mm の Au 電極(対極)を実験に使用した。この二つの基板を重ね合わせることで平行平板構造とした。作用極上に自己組織化単分子膜(SAM)を成膜し、ここに抗コルチゾール抗体を化学結合させ、コルチゾールセンサとした。濃度が既知の標準試料を作製し、得られた EIS スペクトルから表面抵抗を計算して濃度 vs. 表面抵抗変化率の検量線を作成した。この検量線をもとに、唾液試料での表面抵抗変化率を計測して 1000 倍希釈した唾液中のコルチゾール濃度の推定を行った。また濃度測定結果の評価を行うために、唾液中コルチゾールの定量として確立されている ELISA 測定の結果と比較した。

## 3. 結果と考察 (Results and Discussion)

作製したセンサの濃度変化特性を Fig. 1 に示す。縦軸に 0 mol/L に対する表面抵抗の変化率 ( $10^{-10}$  mol/L の 0 mol/L に対する変化を 100 % とする) をとり、横軸にコルチゾール濃度を対数表示で示している。この検量線に各唾液試料における表面抵抗変化率を当てはめ、濃度推定を行った。この推定結果と同試料における ELISA 測定結果との比較を Fig. 2 に示す。ここでは縦軸に採取した唾液試料番号、横軸にコルチゾール濃度(mol/L)を示している。図からわかるように ELISA の測定結果に近似し一定の定量精度を確認した。

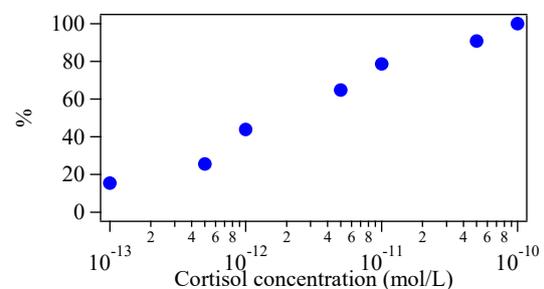


Fig. 1 Sensor characteristics of cortisol biosensor

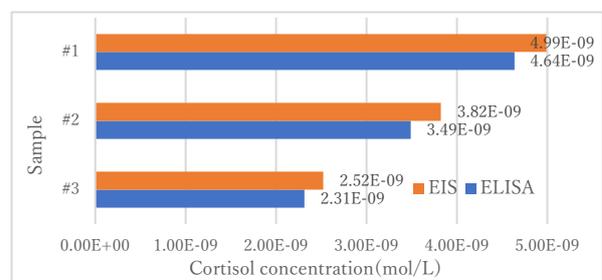


Fig. 2 The comparison between EIS and ELISA

4. その他・特記事項(Others) なし

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation) なし

6. 関連特許(Patent) なし