

## 光導波路センサを用いた小型臨床検査装置用の簡易定量検査技術

### 簡便な操作手順で、高感度に被検物質を定量検査

近年、臨床現場では、迅速な診断による患者のQOL (Quality of Life) 向上を目的として、その場で速やかに検査結果が得られる簡易検査法が普及しつつあります。現在もっとも普及している簡易検査法にイムノクロマト法がありますが、検査手順が簡便な半面、定量検査に適していません。

東芝は、独自に開発した平面光導波路センサを応用し、迅速で簡便に被検物質を定量できる簡易検査技術を開発しました。インスリン検量性能を調べた結果、人血中濃度の下限値レベルまで良好に検量できました。

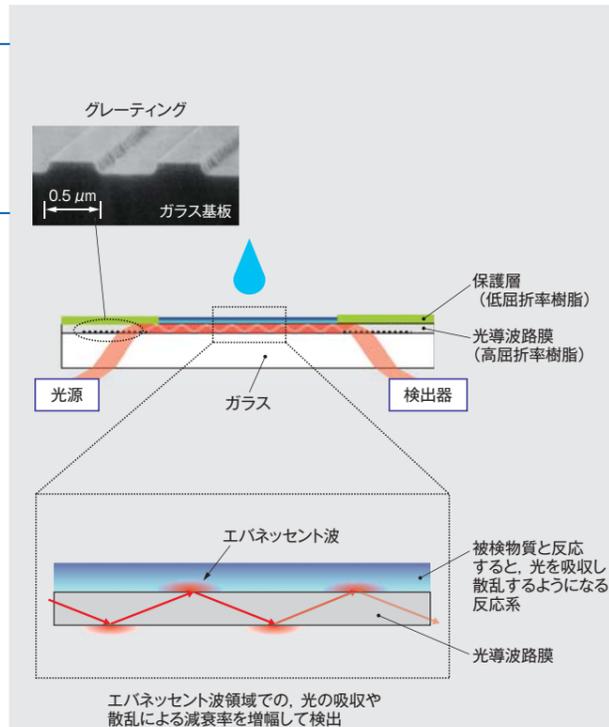


図1. 光導波路センサチップの断面模式図と検出原理 — グレーティングで回折した光が光導波路膜内を全反射で伝搬する際、表面から波長程度の距離まで光がしみだします。ここに被検物質の量に応じて光学的な変化を起こす反応系を組み合わせることで高感度に検出できます。

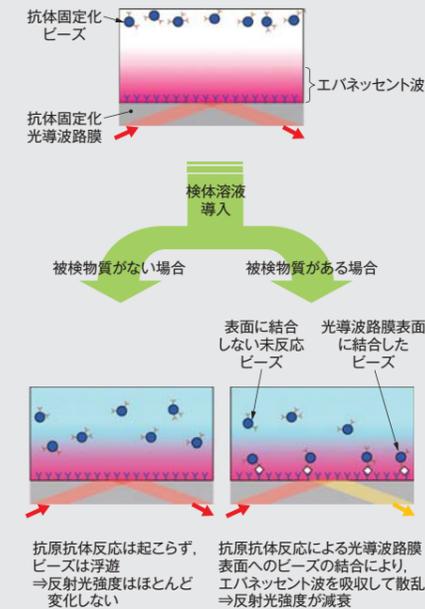


図2. 光導波路免疫センサの検出原理 — 被検物質を介して光導波路膜表面に結合した抗体固定化ビーズだけがエバネッセント波で検出され、未反応ビーズは検出されません。



図3. 試作した測定機 — 光源にLED、検出器にフォトダイオードを用いることで、A6サイズレベルのコンパクトな測定器を実現しました。

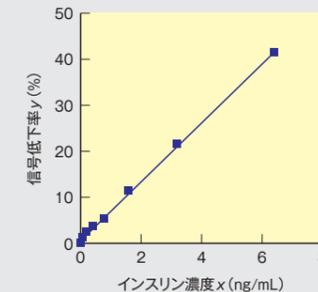


図4. インスリン検量性能の評価結果 — 簡便な測定操作手順で、0.1 ng/mL という低濃度から良好な検出性能が得られました。分布の近似式は  $y=6.4239x+0.6264$  になります。決定係数  $R^2$  ( $R$ : 相関係数) が0.9987で1に近く、非常に直線性の高い検量線が得られます。

### 免疫反応を利用した従来の検査法

血液や体液などの検体に含まれる被検物質を検出する方法として、抗原と抗体との特異的な反応、いわゆる免疫反応を利用した方法があります。被検物質を抗原とし、これと特異的に反応する抗体試薬を用いて、免疫反応に伴う光学的な変化などを計測します。

この免疫反応を利用した簡易検査法の一つがイムノクロマト法です。被検物質を抗原とする抗体を多孔質シートの一部にライン状に固定化したデバイスを用います。検査の際には、着色ビーズなどに抗体を固定化した抗体試薬と検体溶液を混合させながらシート内に浸透させ、検出ラインを通過させます。被検物質が存在する場合、抗体試薬が被検物質を介して検出ラインの抗体と反応してとどまり、その濃度が可視レベ

ルに達すると陽性と判定します。

この方法は、デバイスが小さく、検体液を滴下して所定時間待つ、という簡単な操作で検査できることから、感染症などの簡易検査法として広く普及しています。その反面、限られた時間内に着色ビーズが検出ラインにとどまることのできる量に限界があるため、更なる高感度化が難しいという課題があります。また、定量性が低いため、数値が重要な検査項目への適用は難しいと考えられます。

一方、検査センターや病院の検査室などでは、大型の自動免疫検査装置による定量検査が行われています。この検出には、反応容器やビーズなどの固相に担持した抗体及び標識物質を結合させた抗体 (標識抗体) と被検物質を反応させた後、未反応の標識抗体を洗浄し除去したうえで、標識物質の量に

起因する量を計測する方法が一般に用いられます。標識物質として、発色反応を触媒する酵素や蛍光体などが用いられます。高感度で高精度に定量できますが、洗浄が必要で、装置の小型化や迅速化に限界があり、簡易検査への適用は困難でした。

これらの既存法に対して、簡便な操作手順で、高感度に定量できる小型検査装置が実現すれば、より広範な項目の簡易検査が可能になり、患者のQOL向上への寄与が期待されます。

### 光導波路センサの検出原理

このような検査法を実現するため、東芝は光導波路センサと抗体固定化ビーズとを組み合わせた測定法を考案し、その性能を検証してきました。

開発した光導波路センサの構造は、ガラス基板上にグレーティングと呼ぶ

凹凸ラインの酸化チタン膜2組と、ガラスより屈折率の高い光導波路膜 (有機樹脂膜) を形成し、更にグレーティング間に開口部を持ち、光導波路膜より屈折率の低い保護層を形成します (図1)。いわゆるスラブ型光導波路構造であり、有機樹脂膜がコア層、その上下に接するガラス基板と保護層などがクラッド層に相当します。

光導波路膜とガラスなどの界面での全反射条件を満たす角度になるように、光をグレーティングで回折させて膜内に導入すると、膜内を全反射しながら伝搬します。全反射の際に光導波路膜表面から波長程度の距離までエバネッセント波と呼ぶ光がしみだすことが知られており、この領域に光の散乱体や吸収体があると、その量に応じて伝搬光が減衰します。そこで、被検物質の量に応じて伝搬光を吸収し散乱する構造を

あらかじめ表面に形成しておくことで、伝搬光の減衰率から被検物質を定量できます。更に、光導波路膜内を多重反射することで減衰率が増幅されます。このような原理によって、光導波路膜表面からサブミクロンの領域にある物質だけを高感度に定量できます。

光導波路膜が薄いほど多重反射回数が高まるため、原理的には高感度化に有利と考えられます。しかし、導波路内での光の干渉が起きやすくなり、光を導入するために厳密な光軸調整も必要になります。当社は、光源として連続的な波長分布を持つLED (発光ダイオード) の採用と、導波路膜厚の最適設計により、光軸調整が容易で簡易検査に適した高感度センサを実現しました。

### 光導波路免疫センサの原理と性能

この光導波路センサの表面に抗体を

固定化しておき、更に従来の免疫測定法で用いられるような抗体固定化ビーズを組み合わせました (図2)。

免疫反応により光導波路表面に結合したビーズに起因するエバネッセント波の減衰率を計測することで、被検物質の濃度を定量できるようになります。それと同時に、表面に結合しない未反応ビーズは、そのほとんどがエバネッセント波領域外に存在するため検出されません。結果的に、抗体固定化ビーズと検体をチップ上に導入するという操作だけで、被検物質の濃度を定量できるようになりました。

このセンサに、LEDやフォトダイオードといった小型光学部品を用いることで、105 (横) × 148 (縦) mmのA6サイズ程度のコンパクトなシステムを試作しました (図3)。

この測定法で、糖尿病治療の重要な指標の一つであるインスリンに対する検量性能を調べた結果、人血中濃度の下限値レベルである0.1 ng/mLという低濃度まで良好な検量性が得られました (図4)。

### 今後の展望

今後、検査感度と精度を更に向上させ、迅速性、簡便性、及び定量性が求められる臨床検査での実用を目指します。

### 謝辞

この技術の開発に際して、試薬開発などにご協力いただいた (株) 森永生科学研究所の関係各位に深謝いたします。

東野 一郎

生産技術センター  
プロセス研究センター研究主務