

2006/4/12

NBMF

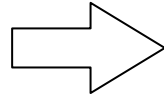
ナノテクビジネスマッチングフォーラム

レーザー干渉光熱変換法による 高感度吸光分析

株式会社 神戸製鋼所
技術開発本部 電子技術研究所

研究開発の背景

蛋白質、DNA等の
分子レベルでの研究
相互作用解析
プロテオーム解析



極微量・低濃度の各種生体分子を
超高速・高感度に分析・解析する
ニーズが高まる。

蛋白等の生体分子の研究

→ サンプルの確保が困難
必要とする情報が多い

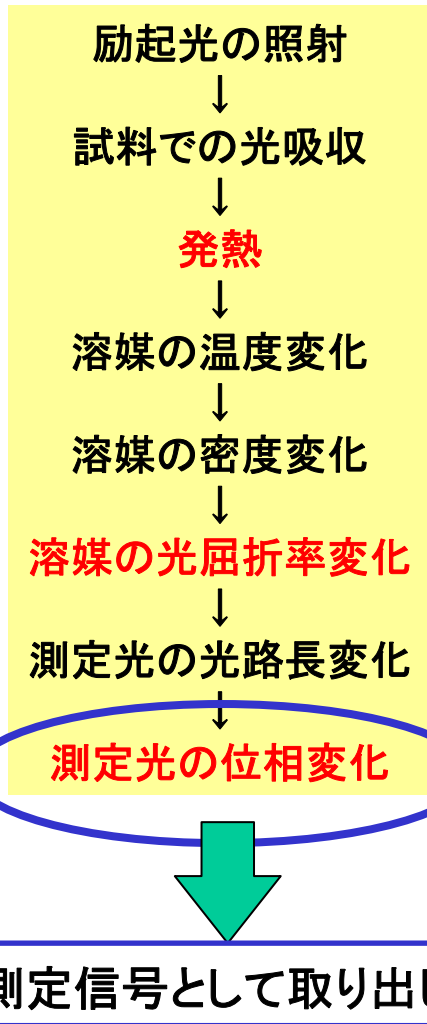
→ 高速・高感度・高機能的な分析・解析手法に対するニーズ

光熱変換法を利用した新規の高感度分析技術の研究開発

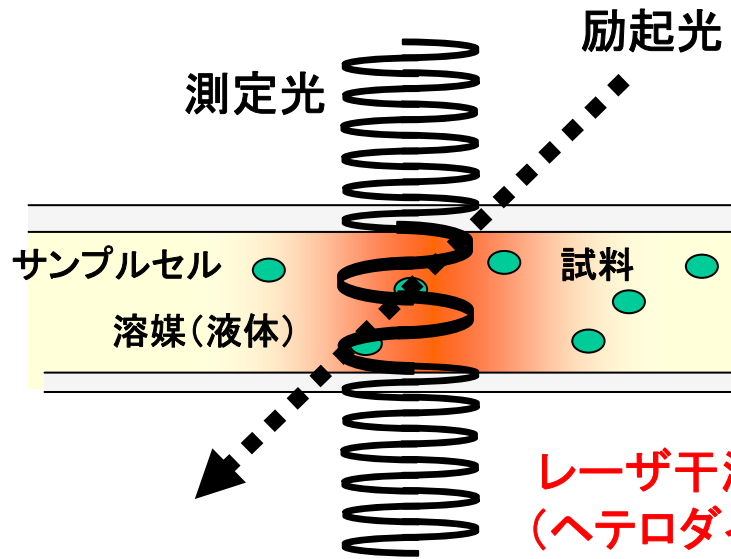
NEDO)先進ナノバイオデバイスプロジェクト(期間:2003年度~2005年度)

「レーザ干渉光熱変換法によるサブアトモル生体分子分析技術の研究開発」による研究開発

測定原理



溶媒に透明な波長レーザーを使用
(He-Neレーザー、633nm)



試料吸収に応じて
励起光波長選択

- ・紫外: 水銀キセノン
- ・可視: キセノン、ハロゲン
- ・赤外: セラミック光源

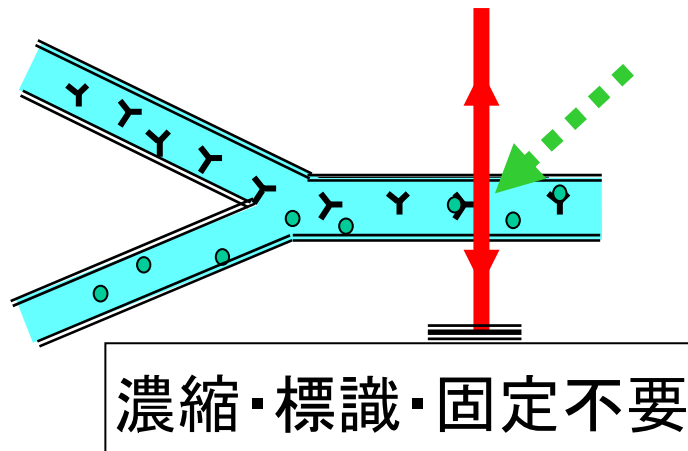
レーザー干渉光熱変換法
(ヘテロダイン干渉計測)

(当社独自技術)

- ・ 液体・固体・気体での測定が可能
- ・ 高感度(温度変化 $\sim \mu\text{K}$ ・光路長変化 $\sim \text{pm}$)

他技術との比較

手法	蛍光法	SPR法	熱レンズ法	吸収分光法	本手法
長所	<ul style="list-style-type: none"> ・高感度 ・簡易 	<ul style="list-style-type: none"> ・高感度 ・標識不要 	<ul style="list-style-type: none"> ・高感度 ・標識不要 ・低コスト 	<ul style="list-style-type: none"> ・標識不要 ・同定可能 	<ul style="list-style-type: none"> ・標識不要 ・同定可能 ・高感度
短所	<ul style="list-style-type: none"> ・標識要 	<ul style="list-style-type: none"> ・固着処理要 ・情報量小 	<ul style="list-style-type: none"> ・同定困難 	<ul style="list-style-type: none"> ・低感度 	<ul style="list-style-type: none"> ・コスト(現状)

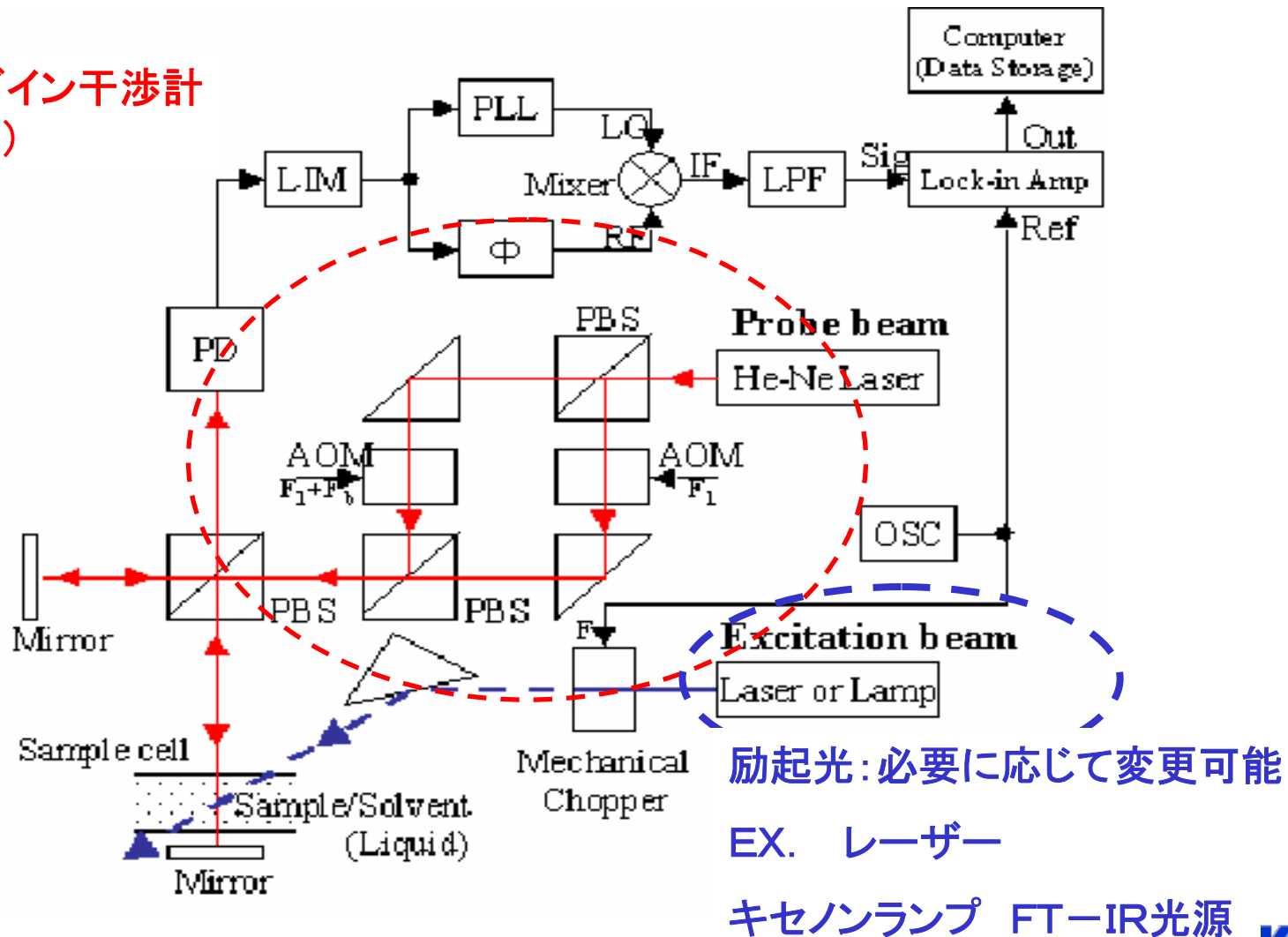


高感度化
→ 励起光増強

極微量分析
→ 測定光レーザーの
集光径絞る

装置構成: 測定系概略

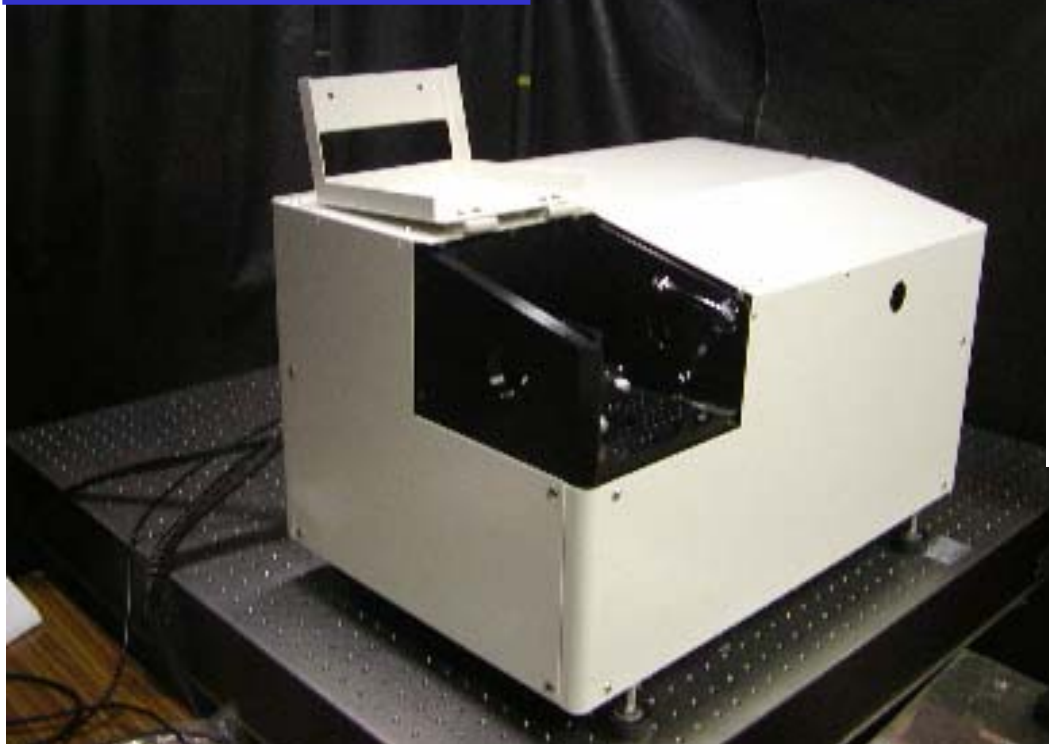
ヘテロダイン干渉計
(測定光)



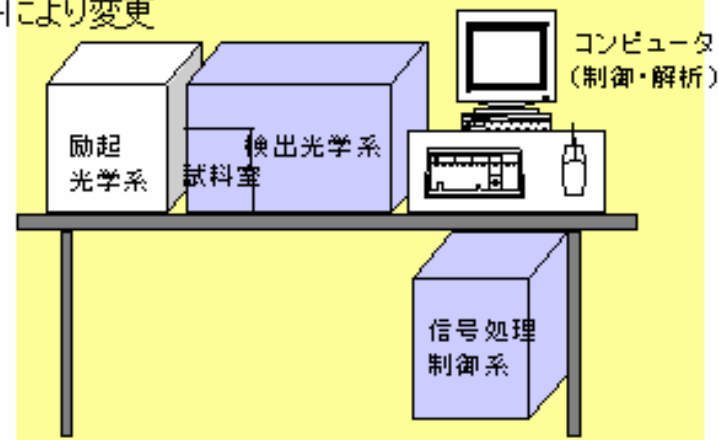
装置構成: 検出部外観

プロトタイプ測定器外観

(600 × 400 × 350 mm)



励起光源は
試料により変更



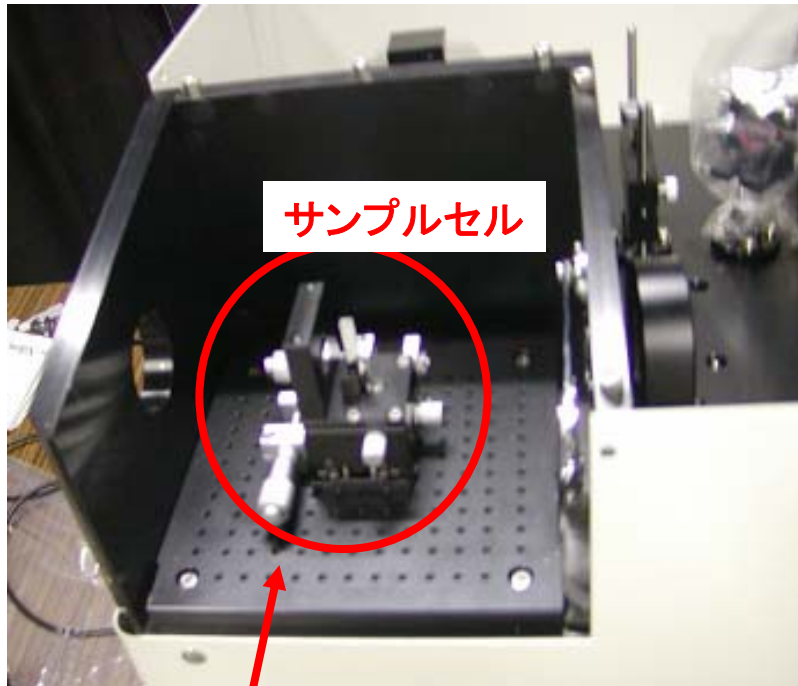
ラックマウント型

BioJapan2005(2005/10/7~9)に出展



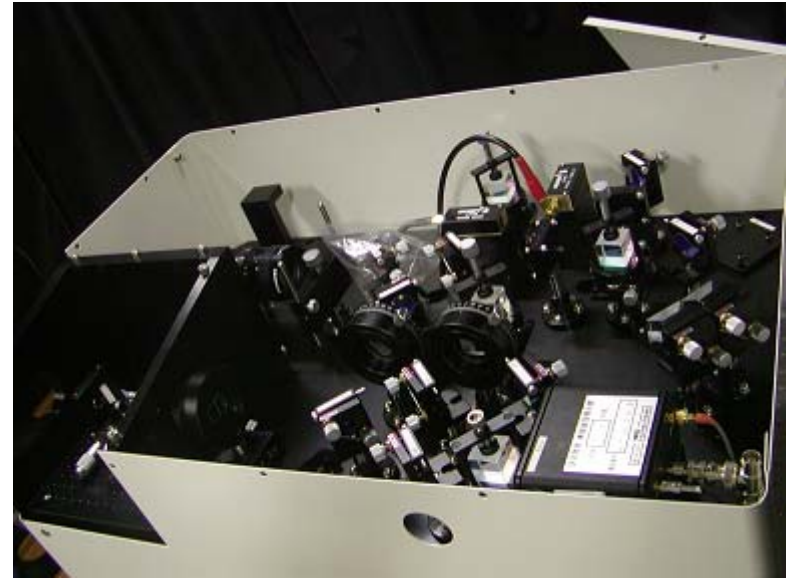
装置構成: 検出部

試料室(拡大)



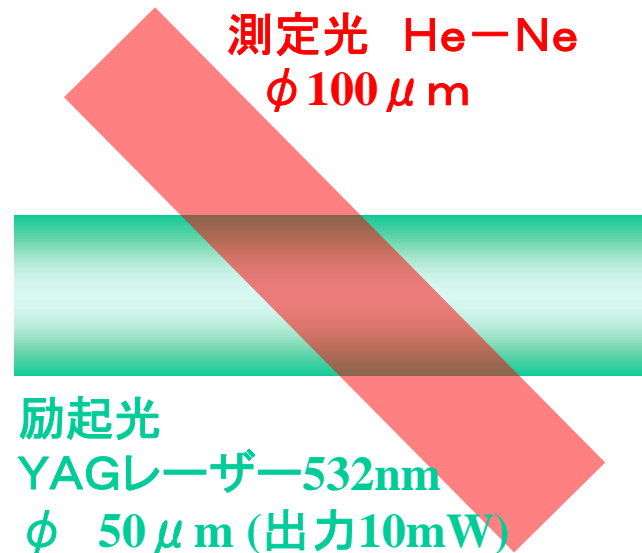
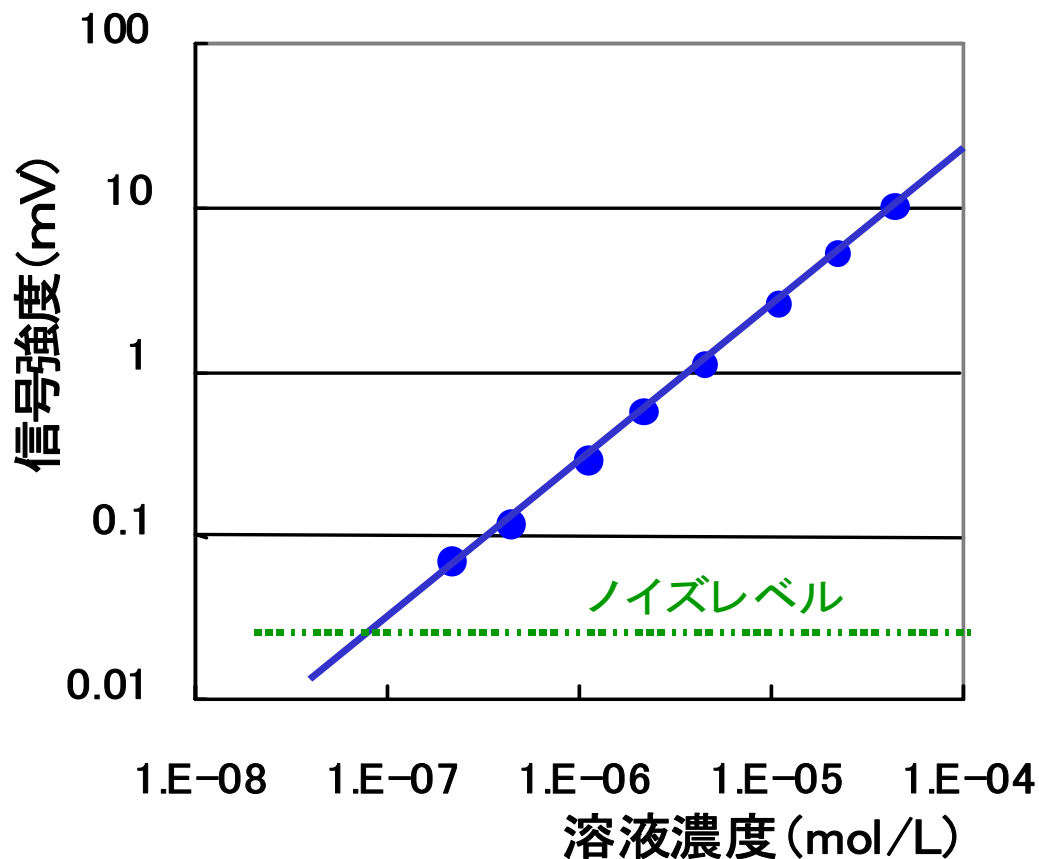
励起光
(外部導入)

測定光学系(上板取外し)



- ・光学系: 2階層設計
 - 上段: ヘテロダイン干渉計
 - 下段: 測定光レーザ光源
- ・試料室: フリーレイアウト設計
- ・励起光: 各種光源を外部導入

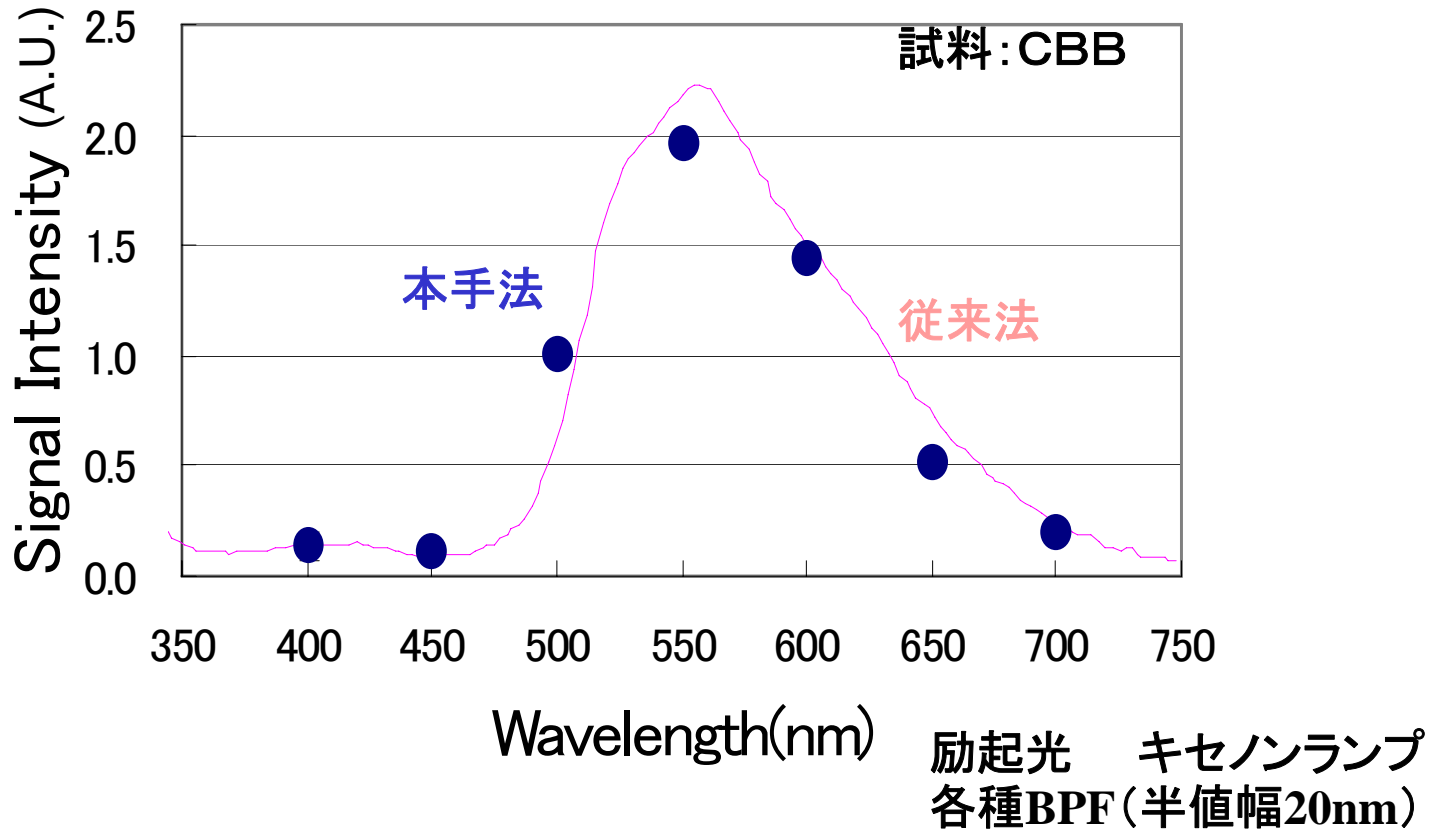
極微量検出～YAGレーザーによる単色励起



測定領域 0.2nl

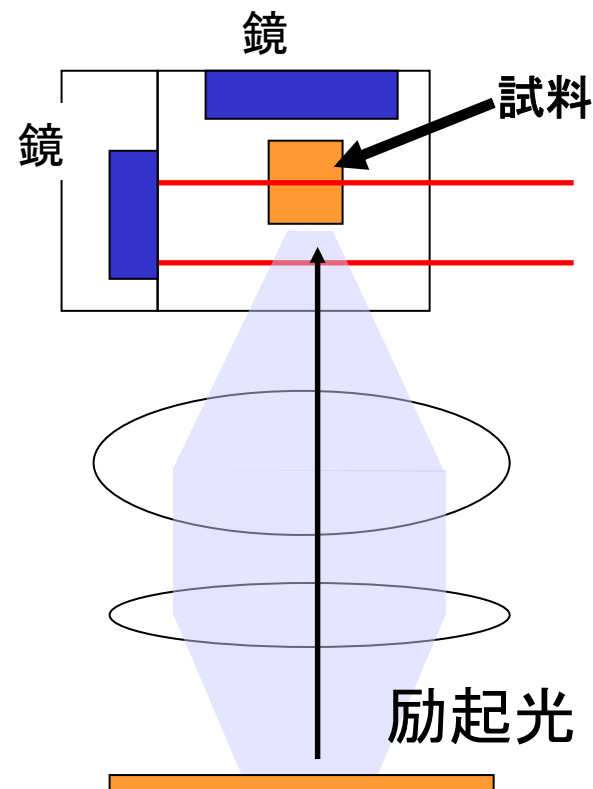
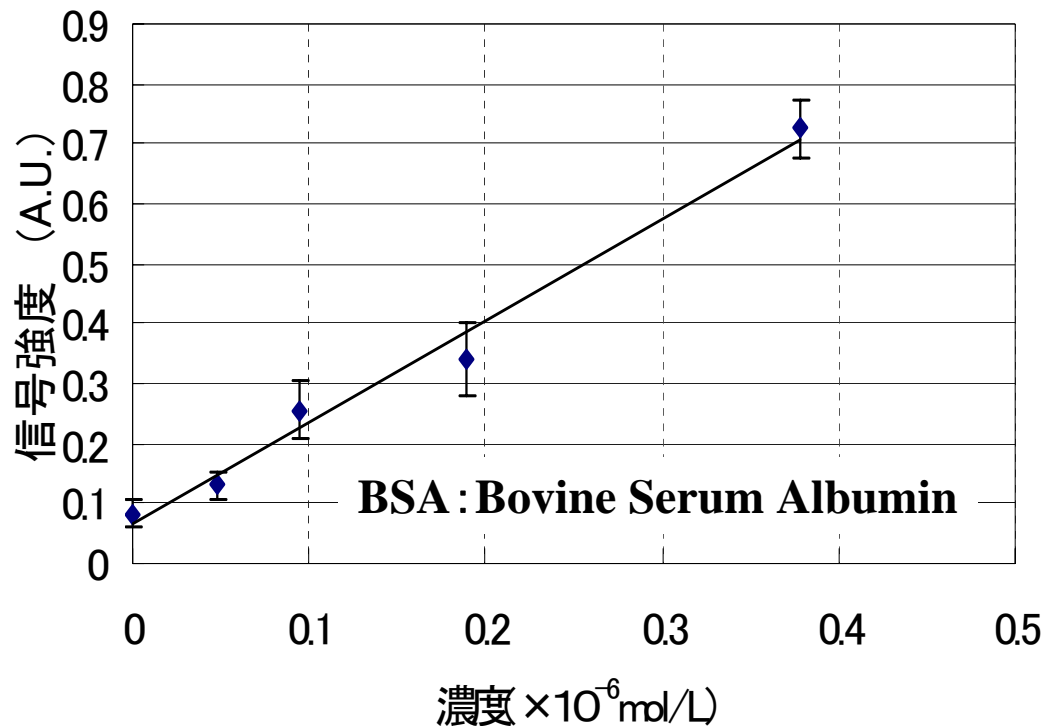
測定域0.2nL (励起光と測定光の交差域)
→20アトモル (20E-18) の色素分子を検出

分光学的情報取得～吸収スペクトル測定



離散的スペクトル取得
→紫外・可視吸光スペクトル取得可能

低濃度蛋白質検出～BSA希薄溶液濃度測定



5×10^{-8} mol/L の BSA を検出

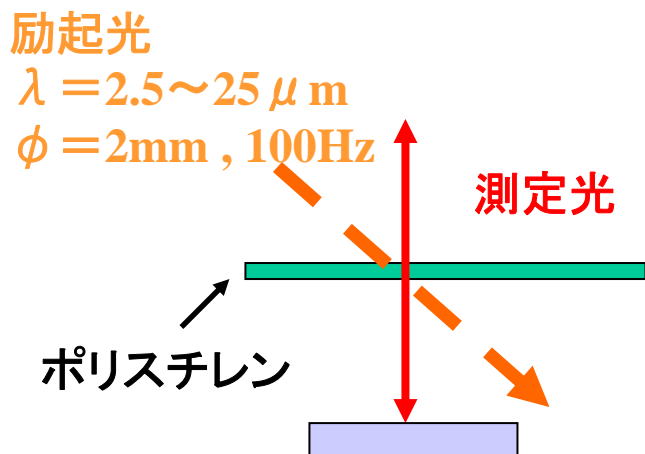
非標識での高感度検出可能

構造情報取得～FT-IRスペクトル測定

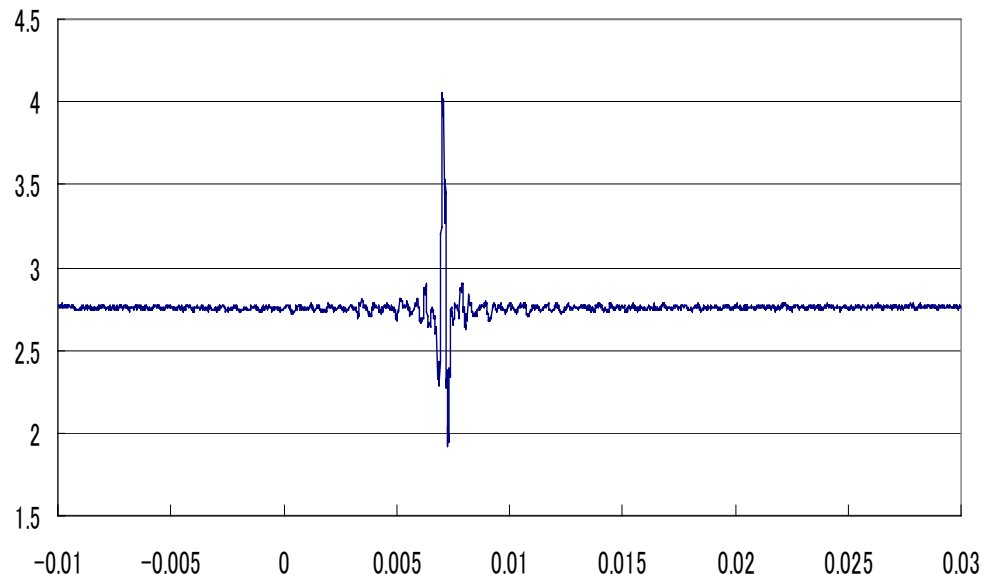
生体分子は反応・相互作用によって分子構造が変化

分子構造情報を取得できる分光分析→FT-IR

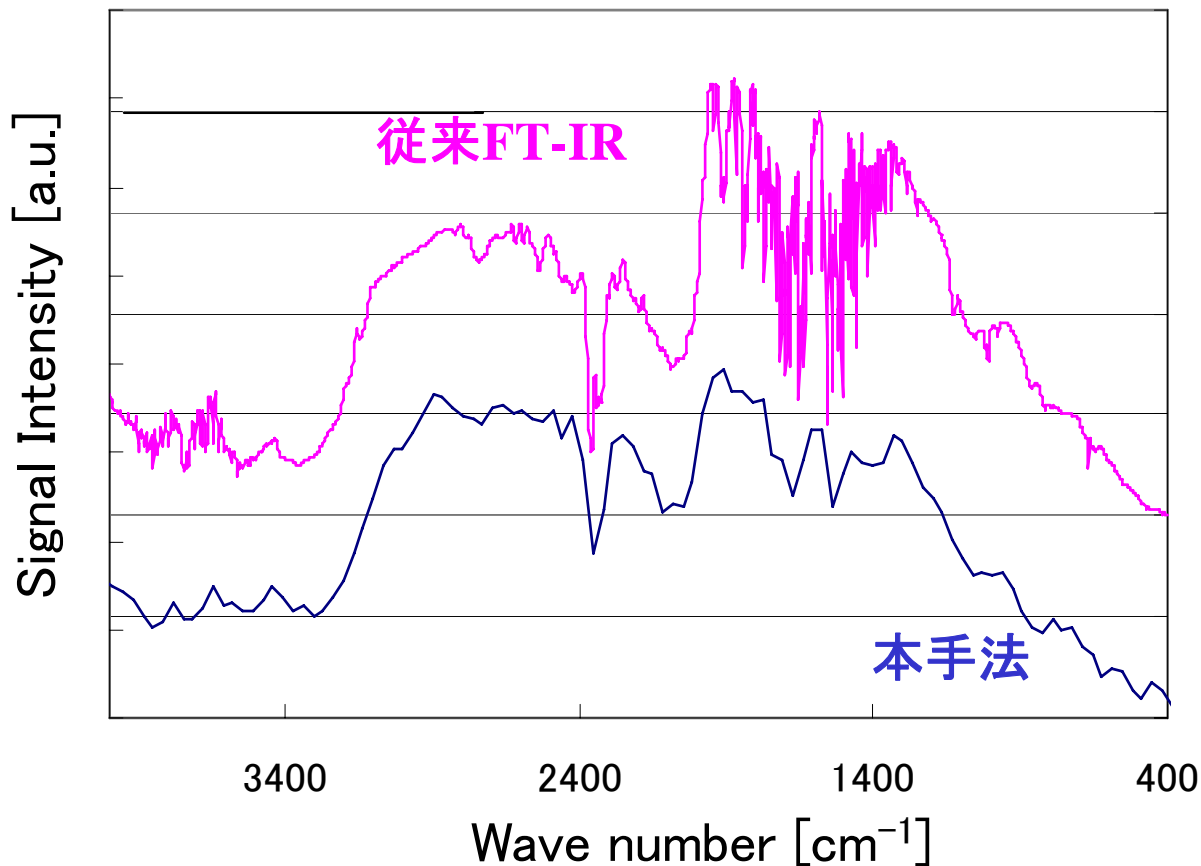
FT-IR光源との組み合わせで同様の機能



インターフェログラム



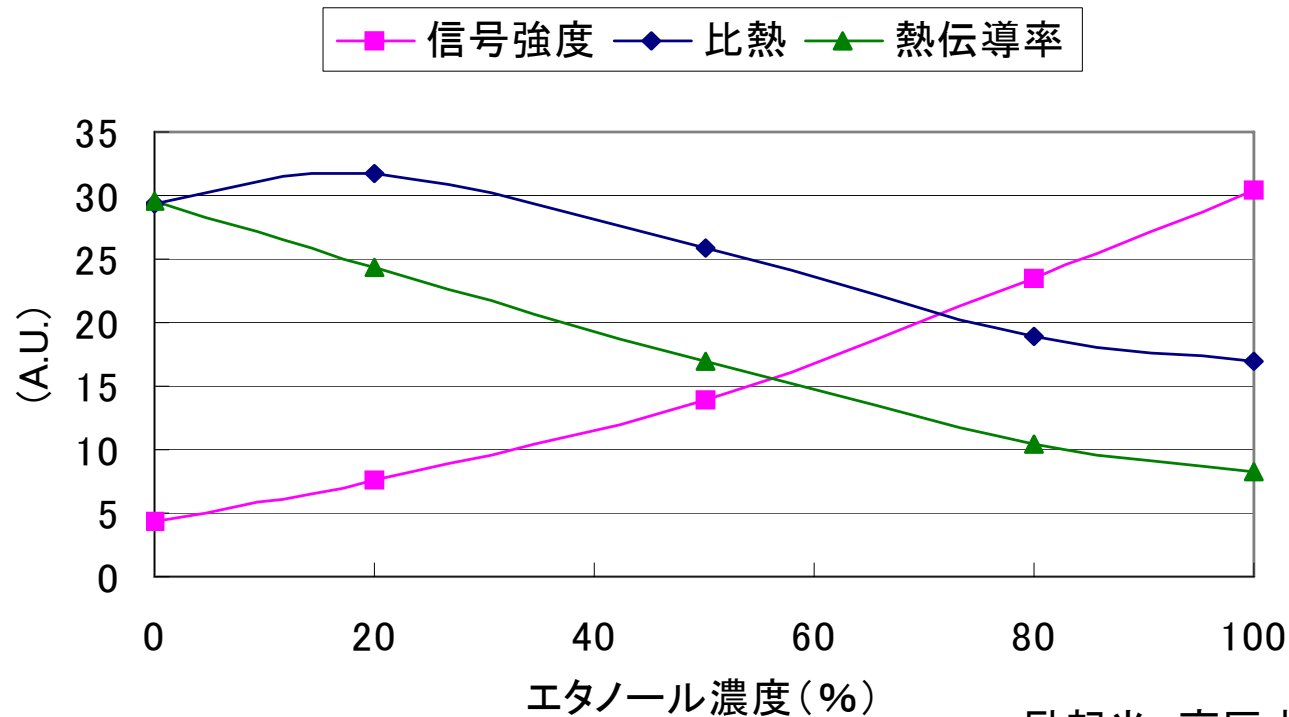
構造情報取得～FT-IRスペクトル測定



FT-IRスペクトル解析可能

蛋白質・DNA水和フィルム／固着基板測定に応用

状態変化に関する情報取得～溶媒変化による影響



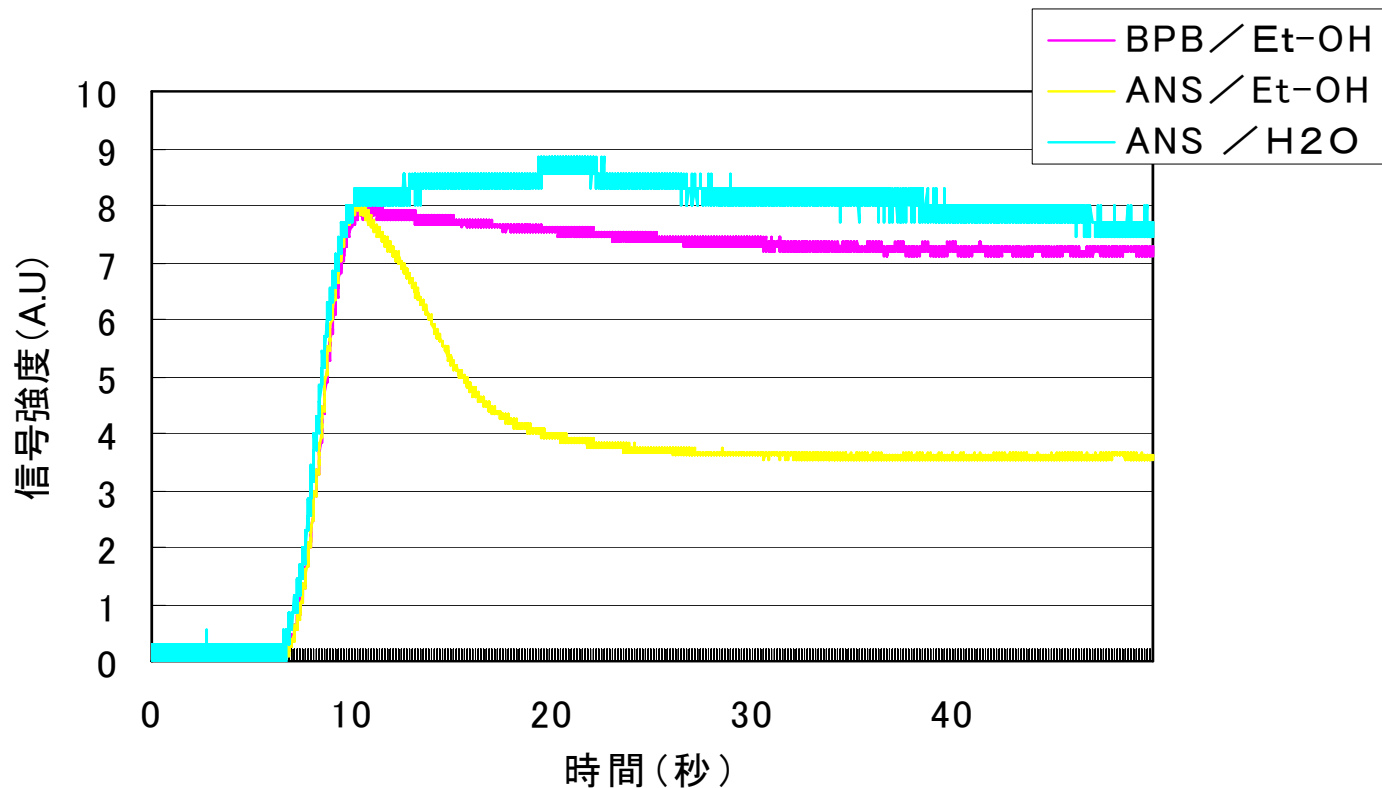
エタノール濃度低→高

- ・ 比熱小
- ・ 熱伝導率大
- ・ 温度変化に対する屈折率変化大

- ・ 励起光 高圧水銀ランプ
250nmBPF使用
- ・ 試料
アシュラム 100ppm
(農薬:吸収極大271nm)
- ・ 溶媒
エタノール/水

試料周辺熱物性の分析に応用の可能性有り

状態変化に関する情報取得～信号強度の時間変化

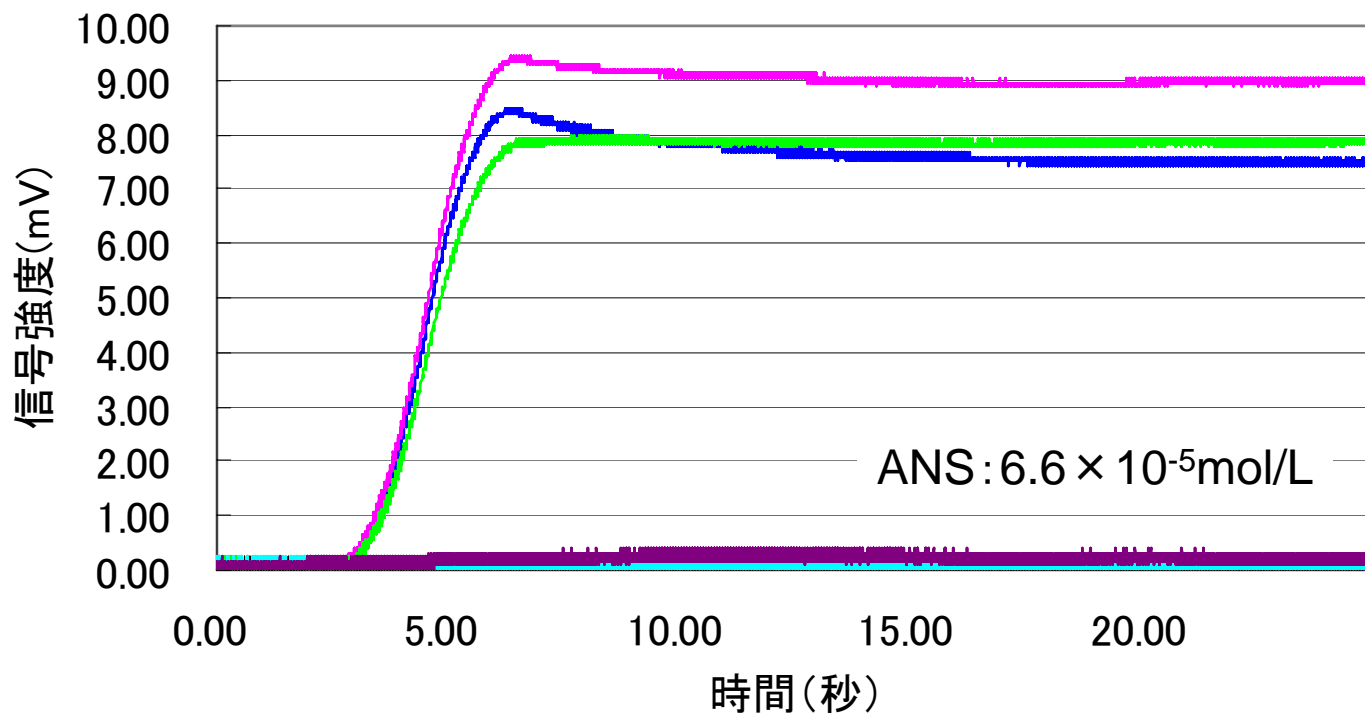
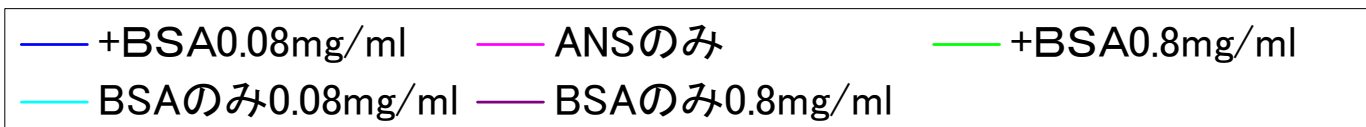


蛍光色素1,8-ANSの吸光度変化を測定

高強度のランプにて吸収極大365nm励起→蛍光を生じ、退色
色素ブロモフェノールブルー(BPB)よりも明らかな変化

分子状態の変化を吸光度変化として測定可能

相互作用解析に向けて～ANS-BSA相互作用



BSA添加による信号強度減少→蛍光を反映

BSA添加量増加による信号形状の変化→相互作用を反映

実験結果まとめ

・検出感度

BSA 5×10^{-8} mol/L

・微量測定

測定領域 0.2nL → 20 amol の色素分子検出可能

・分析性能

紫外・可視・赤外吸収スペクトル取得可能

→ 吸光度微小変化計測による分析

信号時間変化測定による状態変化分析

→ 分子間相互作用解析

【バイオ分野】

血液の高感度検査
蛋白質の微量分析
医療、創薬、食品への展開

【環境分野】

濃縮処理無しでの有害物質検査
環境ホルモン、ダイオキシン
水質検査、気体測定

【材料評価】

材料中の不純物含有量測定
表面付着物の微量分析

レーザー干渉光熱変換 高感度吸光分析

【分析機器】

液体クロマトの高感度センサ
LC-MSの前段センサ
高感度分光光度計
In-situ分析装置

事業化への取り組み

基本技術は確立→事業化に向けた活動

活動内容

- 1) 国内展示会での出展
- 2) 学会／プレス発表
- 3) 大学／企業へのヒアリング
 - 分析化学／分析機器関連(適用アプリケーション探索)
- 4) サンプルトライ
 - 生体分子(蛋白質・DNA・RNA・その他小分子)
 - 環境物質
 - 濃度計測／反応由来の信号計測等
 - 随時相談

対外発表・特許

●プレス発表、展示会出展

- 1) 日刊工業新聞: 記事掲載(平成17年7月6日)
- 2) バイオジャパン2005(平成17年9月7日~9月9日@横浜パシフィコ)
NEDOブース、プロトタイプ機出展

●学会発表、国際会議発表

- 1) 甘中将人、高橋英二、迫田尚和、高松弘行 “レーザ干渉光熱変換法による生体分子の分光測定”
第52回応用物理学関係連合講演会 30p-YS-7(平成17.3.30)
- 2) 迫田尚和、高橋英二、甘中将人、高松弘行 “レーザ干渉光熱変換法による微量生体分子の検出(Ⅱ)”
第52回応用物理学関係連合講演会 30p-ZF-18(平成17.3.30)
- 3) 高橋英二 “レーザ干渉光熱変換法による高感度吸光分析法の開発と、極微量・低濃度の生体分子分析への適用”
JETRO BIOLINK FORUM 2005, Presentation Sessions B-1(平成17.9.6)
- 4) 高橋英二、甘中将人、高松弘行 “レーザ干渉光熱変換法による高感度吸光分析”
日本分析化学会第54年会 H1010(平成17.9.14)
- 5) 馬渡亮、高橋英二、高松弘行 “レーザ干渉光熱変換法による高感度吸光分析”
第28回日本分子生物学会年会(平成17.12.7~12.10@福岡)

●特許出願 20件弱

発明の名称: 光熱変換測定装置及びその方法

出願番号: 特願2005-094322、出願日: 平成17年3月29日

発明の名称: 干渉計、フーリエ分光装置

出願番号: 特願2005-121359、出願日: 平成17年4月19日

発明の名称: フーリエ分光装置、測定タイミング検出方法

出願番号: 特願2005-121409、出願日: 平成17年4月19日



等

事業展開への課題

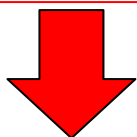
課題1 前処理技術

- ・分離／精製(電気泳動etc)
- ・化学的处理

化学分析 分離精製技術

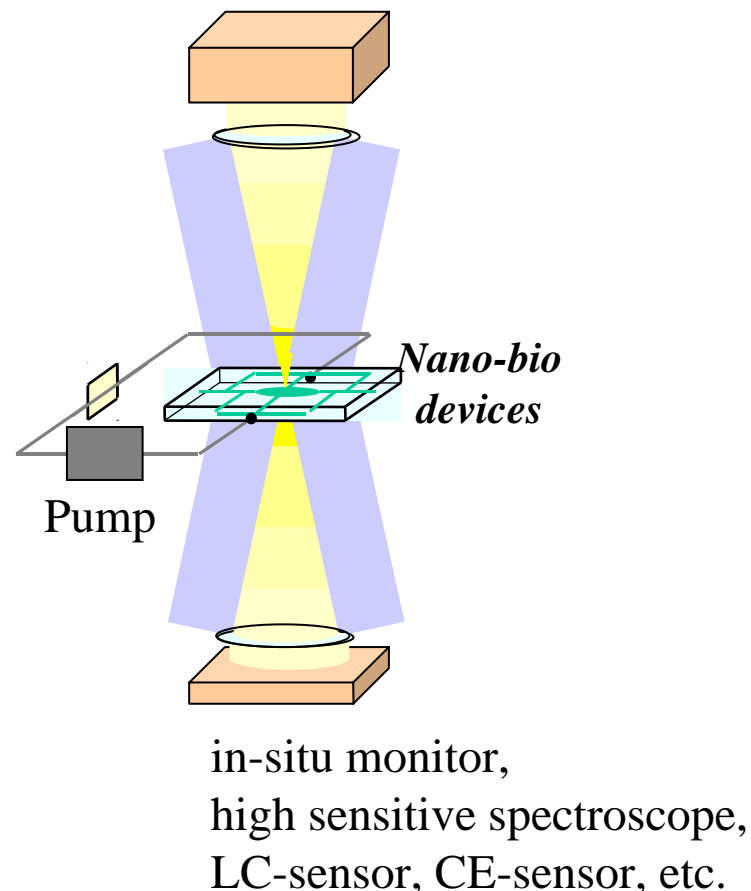
微細加工技術

等の技術を持った企業との協業



総合分析システム構築

Ex. 病原性分子検出のための μ TAS



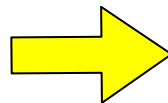
事業展開への課題

課題2 生化学分野技術

酵素反応等

各種生体分子相互作用

Ex. 小分子-蛋白相互作用探索
RNA-蛋白質相互作用探索



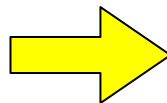
試薬メーカー等
生体分子ハンドリング技術を持つ企業・研究機関との
協業・共同研究開発

課題3 ビジネスのバックグラウンド

バイオ機器分野には新規参入

→最新情報の不足

→展開力不足(含:国外)



生物科学分析機器メーカー
分析機器取り扱い商社等
生体分子分析機器市場に
土地観を持つ企業との協業

より迅速かつ正確にニーズを反映したアプリケーションへの適用

バイオ分野への展開

光熱変換測定装置

高感度化追求

ある現象に特異的な信号の検出
→非標識・非固定

+前処理

高感度吸光分析装置

生体分子相互作用検出装置

+生化学的技術

・ラボ
・研究機関
での研究支援

+前処理
+微細加工
+フロー化

高機能生体分子分析装置

+高速化

高感度生体分子検出装置

医療機器
創薬ターゲット探索
への応用

・工業用高感度検査(品質管理)