

## ◆医療・生命◆ 電気化学で迅速・簡便・高感度に糖尿病を診断して自己管理する

1型糖尿病患者は、血糖レベルをコントロールするホルモンであるインスリンの血中濃度が健常人よりはるかに低いことが知られている。したがって糖尿病の診断・自己管理のためのインスリンセンサーの開発は高感度化が重要なポイントとなる。本研究では、抗インスリン抗体とグルコース酸化酵素を結合したものに、インスリンを反応させ、未反応の抗体をインスリン固定化基板上に回収した。グルコース酸化酵素の活性を電気化学的に測定することにより、従来法の約1000倍の高感度化が達成され、pM（ピコモル：1兆分の1モル）レベルのインスリンの測定が可能となった。

【A2004】

過酸化水素の高感度クーロメトリックセンサを利用した pM レベルのインスリンの免疫測定

（兵庫県立大院物質理）○水谷文雄・太田栄次・稲積伸悟・安川智之 [連絡者：水谷文雄，電話：0791-58-0172，E-mail：mizutani@sci.u-hyogo.ac.jp]

インスリンは血糖レベルを制御する重要なホルモンであるが、健常人のインスリンの血中濃度は 50 pM 程度で、1型糖尿病患者ではこれよりはるかに低い。従って、糖尿病の診断・自己管理用のインスリンセンサーの開発に当たっては迅速性，簡便性に加えて，高感度化が重要な課題となる。電気化学免疫測定式のセンサーは簡便性の点で優れているが，通常，検出下限濃度は nM レベルに止まる。我々は，電気化学測定法を高感度化することにより，pM レベルのインスリン測定を可能とした。

抗インスリン抗体とグルコース酸化酵素(GOx)とを結合した GOx 修飾抗体と試料中のインスリンとを反応させ、未反応の GOx 修飾抗体をインスリン固定化基板上に回収する。インスリン濃度が低いほど，未反応の GOx 修飾抗体量は多く，基板上に回収される GOx 修飾抗体量も多い。従って，基板上の GOx 量(触媒活性)から試料中のインスリン濃度が求められる。GOx 活性測定法を高感度化すると，微量の GOx 修飾抗体とインスリンとの反応の追跡が可能となり，低濃度のインスリンでも測定できる。

我々は GOx 反応により生成する過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)を，電極上に電荷として蓄積するという方法により，GOx 活性測定を高感度化した(従来法の約 1,000 倍)。すなわち溶液中にペルオキシダーゼ(HRP)と Os<sup>2+</sup>錯体を含む高分子膜で被覆した電極を挿入して一定時間放置する。HRP の触媒作用により Os<sup>2+</sup>は H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> と反応し Os<sup>3+</sup>に酸化・蓄積される。蓄積後に Os<sup>3+</sup>を電解還元するときの電気量から Os<sup>3+</sup>の蓄積量を求める。以上(図参照)により，約 30 分で 2 pM - 4 μM のインスリンの測定が可能であった。糖尿病の POCT システムの構築が期待される。

