

金ナノ粒子サンドイッチアッセイ法の高感度化に向けた 単体・二量体粒子の高精度識別

Precise discrimination of monomer and dimer particles for highly sensitive
sandwich assay with gold nanoparticles

慶大理工 ○竹下 由香里, 水野 直人, 三反畑 輝, 江刺家 恵子, 斎木 敏治
Keio Univ. ○Yukari Takeshita, Naoto Mizuno, Akira Sandanbata, Keiko Esashika, Toshiharu Saiki
E-mail: takeshita@saiki.elec.keio.ac.jp

生体分子の修飾が容易で安定な標識となることから、金ナノ粒子を用いたバイオセンシング技術が注目されている。既存の技術としてイムノクロマト法があり、インフルエンザ検査や妊娠検査に使用されている。また、金コロイド溶液を検査薬として、検体である DNA や抗原を介した粒子の凝集を溶液の色の変化としてとらえるイムノアッセイ法も提案されている。これらの方法は検出対象の存在を目視で確認することができるが、極微量の検体を高感度に検出することは困難である。高感度に検出するためには、検体と結合していない多数の孤立粒子の中から、わずかな検体によって結合した極少数の金ナノ粒子二量体を識別できる程の感度が必要となる。そこで我々は、溶液中をブラウン運動する 1 つ 1 つの孤立粒子、二量体に顕微偏光計測を適用し、瞬時に両者を識別しながら計数する方法を提案し、そのデモンストレーションを行った。

両者を識別するために、散乱光強度や並進拡散運動だけでなく、金ナノ粒子のもつ光学異方性と液中での回転拡散運動にも着目した。金ナノ粒子二量体は、粒子間の強い相互作用に起因する光学異方性によって、散乱光の偏光を大きく回転させる。また、孤立粒子と二量体では液中での回転拡散係数が 4 倍程度異なり、散乱光の偏光揺らぎの時定数の違いとしてあらわれる。この 2 点に着目することにより、孤立粒子と二量体を高精度に識別できると考えた。

原理検証のための試料として、DNA ハイブリダイゼーションを介して結合した金ナノ粒子(直径 40nm)二量体溶液と、結合させていない単体溶液を作製した。偏光測定は光学顕微鏡下で行い、計測用の光源として半導体レーザ(波長 670nm)を使用した。対物レンズの集光領域をブラウン運動しながら通過する個々の粒子からの散乱光を 2 つの直交偏光成分に分け、それぞれの強度をフォトダイオードで検出した。粒子の光学異方性の大きさと回転運動のダイナミクスの情報を定量的に得るため、2 つのフォトダイオードの差分信号に対して自己相関解析を行った。観測された信号のノイズ成分の相関がなくなり、かつ回転拡散速度の違いが明確に見出される遅延時間での相関値(A)を抽出した。

単体溶液、二量体溶液のそれぞれにおいて、粒子 1000 個分についての A のヒストグラムを図に示す。単体溶液中には DNA が絡まる等の理由により二量体となっている粒子が 1%ほど含まれており、これを考慮すると、 $A > 3.0$ の粒子はほぼ誤りなく二量体であると判定できる。判定のしきい値となる A の値が小さいほど、計測時間が短くなる。現在、波長 670nm 以外のレーザを用いて測定をおこない、単体と二量体の識別がより容易となる(単体と二量体の A の分布の差異がより明確となる)計測波長を検討している。結果の詳細は当日報告する。

