

断片化抗体を用いた金ナノ粒子サンドイッチアッセイ法による 抗原抗体反応の光学的検出

Polarization-based sandwich assay in aqueous solution

using F(ab')₂ antibody-modified Au nanoparticles

慶大院理工 [○]水野 直人, 三反畑 輝, 江刺家 恵子, 斎木 敏治

Keio Univ.¹, [○]Naoto Mizuno¹, Akira Sandanbata¹, Keiko Esashika¹, and Toshiharu Saiki¹

E-mail: naoto.mizuno@saiki.elec.keio.ac.jp

金ナノ粒子は、表面プラズモン共鳴による強い散乱光や、生体分子への修飾の簡便性、安定性ゆえにバイオセンシングにおいて広く用いられている。その好例がインフルエンザ検査や妊娠検査であり、金コロイドを用いた可視的な検査手法である。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による溶液の色の変化から検出対象の有無を認識する手法もある。しかしこうした手法は感度の点で原理的な限界を抱えており、病気の初期段階での発見など極微量の検体を高感度に検出することは困難である。高感度検出のためには凝集体でなく、僅かな検体によって結合した少量の金ナノ粒子二量体の識別が必要であると言える。先行研究として我々は、DNA をターゲットとして形成される金ナノ粒子二量体の液中顕微計測を行ってきたが、今回新たに特定の抗原をターゲットとするアッセイ法を実現したのでこれを報告する。

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を持つ。溶液中をブラウン運動する金ナノ粒子はこの光学異方性により、孤立金ナノ粒子には見られない散乱光の偏光揺らぎをもたらす。また孤立粒子と比べて 4 倍～10 倍程度の散乱光強度も示すことも知られている。この 2 点は二量体を識別する上で有用な指標であるが、どちらの効果も二量体の粒子間距離と共に弱まるため、分子量の大きなタンパク質からなるサンドイッチ構造二量体の光学的識別には工夫が必要である。我々は金ナノ粒子に酵素反応させた IgG 抗体を修飾し、そこに hCG 抗原を添加することで抗原抗体反応によるサンドイッチ構造二量体を作製し、それに液中顕微計測を適用した。

図 1(a),(b)は波長 660nm 半導体レーザを照射した際の金ナノ粒子からの散乱光を 2 つの直交する偏光成分に分けて測定したものである。各々の成分の差分を取り自己相関解析を行った結果が図 1(c)であり、孤立粒子と二量体粒子との間に明確な相違が見られることが分かる。溶液中での回転拡散速度の違いが顕著に現れる遅延時間での相関値に着目し、二量体粒子の識別を行ったのでその結果について報告する。

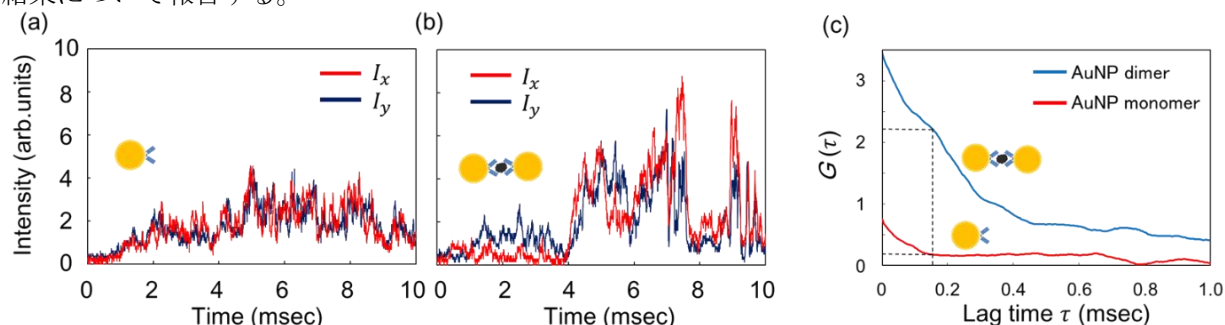


図 1. (a)孤立金ナノ粒子(b)二量体金ナノ粒子からの散乱光信号と差分信号の自己相関解析結果(c)