

特異的リガンド含有ポリマー薄膜構築チップを用いた C-Reactive protein の高感度プラズモニクセンシング

High Sensitivity Plasmonic Sensing of C-Reactive protein

Using Sensor Chip bearing Polymeric Specific Ligand Thin Film

神戸大院工¹, 産総研² ○松浦 亮¹, 北山 雄己哉¹, 田和 圭子², 竹内 俊文¹

Graduate School of Engineering, Kobe University¹, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology², ○Ryo Matsuura¹, Yukiya Kitayama¹, Keiko Tawa², Toshifumi Takeuchi¹

E-mail: takeuchi@gold.kobe-u.ac.jp

1. 緒言

バイオマーカータンパク質の高感度検出に関する研究は種々の疾病の早期診断に繋がることから世界中で盛んに行われている。タンパク質の高感度検出は表面プラズモン共鳴 (SPR) や Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) などの方法により試みられてきたが、SPR は簡便かつ迅速である一方で感度が不十分かつ高価な装置・チップが必要といった欠点があり、ELISA は高感度かつ装置・チップが安価であるが時間がかかるという問題点があった。この2つの欠点を克服したセンシングツールとして、SPR による光の局在化現象を利用して蛍光増強を生じさせるプラズモン励起増強蛍光 (SPF) を利用したプラズモニクチップが開発された。このプラズモニクチップは、金属薄膜でコーティングした波長オーダーの周期構造を表面に有しており、ELISA と同程度の高感度で簡便・迅速な測定が可能である。また光硬化性樹脂により周期構造を形成して金属を成膜しているため、安価であるといった特徴を持つ。

本研究ではプラズモニクチップ上に、がん早期診断のためのバイオマーカータンパク質である C-Reactive protein (CRP) に対する特異的リガンドとして働くホスホリルコリン基を側鎖に有する 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine (MPC) を高密度に固定化し、フロー系にて Cy5 修飾 Anti-CRP (Cy5-Anti-CRP) を二次抗体に用いて蛍光顕微鏡による CRP のサンドイッチ型高感度蛍光検出を試みた。

2. 実験

プラズモニクチップ (Ti/Ag /Ti/SiO₂) に APTES でシランカップリング処理を施し、表面にアミノ基を導入し、2-Bromoisobutryl Bromide を用いて Br 基を導入した。得られたプラズモニクチップに MPC、CuBr₂、Me₆TREN を純水に溶解させたプレポリマー溶液を滴下し、脱気窒素置換を行った。そこに ascorbic acid を加え、表面開始原子移動ラジカル重合を行った。重合後のプラズモニクチップは 1 M EDTA-4Na 水溶液にて銅の除去を行った。このプラズモニクチップにフロー系にて CRP を相互作用させ、その後、Cy5-Anti-CRP を順次相互作用させ、蛍光顕微鏡にて CRP の検出を行った。またリガンドタンパク質相互作用を用いる高感度検出をグルタチオン-S-トランスフェラーゼ- π に対しても同様の手法で検討した。

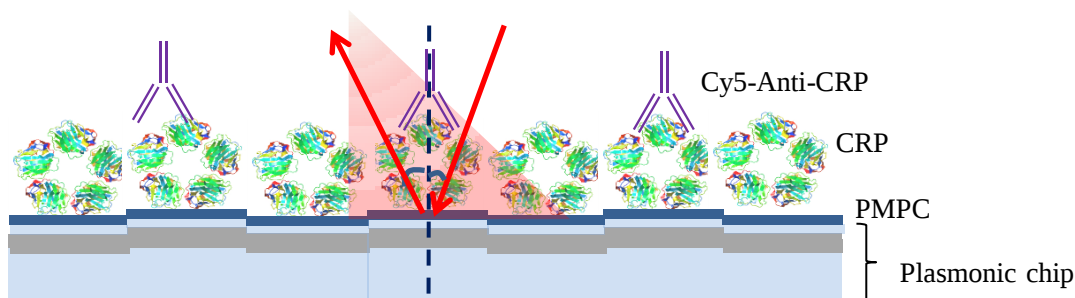


Figure.1 High sensitivity detection of CRP on Plasmonic chip

謝辞 光硬化性樹脂をご提供くださった東洋合成工業株式会社に感謝いたします。