

プラズモニックチップによる高感度イムノセンシング

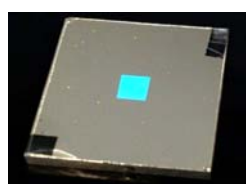
Sensitive immunosensing with fluorescence enhanced on the plasmonic chip

○田和圭子

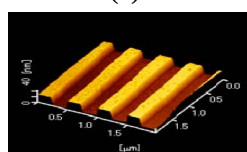
Health Research Institute, AIST

E-mail: tawa-keiko@aist.go.jp

バイオセンシング法として表面プラズモン共鳴 (SPR) 法は有効な手法の 1 つであるが、我々のグループではターゲット分子をより高感度に検出する手法として、SPR を励起場とした表面プラズモン励起増強蛍光分光 (SPF) 法の開発を進めてきた。特に波長オーダーの周期構造 (Fig.1) を基板表面に作製し、金属薄膜を成膜したプラズモニックチップでは、格子結合型 SPR (GC-SPR) による増強電場を形成することができ、増強蛍光による高感度バイオセンサーやバイオイメージングが、小型装置で実現



(a)



(b)

Fig.1 (a)プラズモニックチップの写真と(b)周期構造レプリカのAFM像

できる。本研究ではモデル化合物ビオチン-アビジンを利用した Cy5-ストレプトアビジン (Cy5-SA) 検出、蛍光標識腫瘍マーカー・EGFR 検出、サンドイッチアッセイによる腫瘍マーカー α -fetoprotein (AFP) 検出について紹介する。

周期構造レプリカは光ナノインプリ

ント法により作製し、rf-スパッタ法で Ag と SiO₂、あるいは ZnO を成膜してプラズモニックチップとした。チップを回転ステージ上にセットし、He-Ne レーザー光 (波長 633nm) をチップの背面 (①) または正面 (②) から入射し、入射角に対する反射率を計測して共鳴角を確認した。そして、入射角を共鳴角に固定し、検出角に対する蛍光強度を光電子増倍管で計測した。

まず、Cy5-SA の検出では、②の光学系で蛍光強度とプラズモニックチップ構造との関係を調べ、増強蛍光を取り出すためのより適した銀膜厚、SiO₂ 膜厚等を明らかにした。

EGFR 検出⁽¹⁾では ZnO 薄膜を用い、①の光学系で確認した共鳴角に入射角を固定し、各 EGFR 濃度において検出角に対して蛍光強度を計測した。リバースカップリングモード (表面プラズモン励起増強蛍光がプラズモニック構造と再結合して増強蛍光となって検出された) に帰属される蛍光ピークが見られた。プラズモニックチップでは、コントロールの ZnO コーティングガラスと比べて 300 倍以上の蛍光強度を検出することができ (Fig. 2)、定量検出が 700fM~10nM の 6 桁の濃度範囲にわたることがわかった。

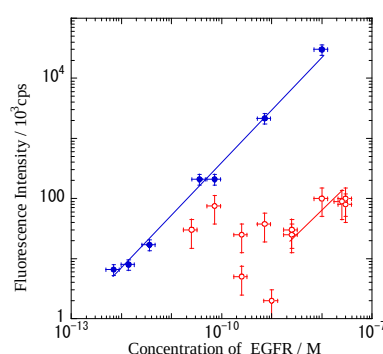


Fig.2 EGFR 濃度に対する蛍光強度 (検量線) : プラズモニックチップ (●), ZnO-コーティングガラス(□)。

AFP 検出では、SiO₂ 薄膜のチップを用い、②の光学系で、入射角を共鳴角に固定して検出角に対して蛍光強度を計測した。サンドイ

ッチアッセイにより、捕獲抗体をチップに固定化し、検出抗体に蛍光標識抗体を利用した。サンドイッチアッセイでも検出限界 2 pg/mL (= 30 fM) まで定量的に計測することがわかった。

謝辞

本研究は多くの共同研究者 (敬称略)、東北大・梅津、中澤、服部、熊谷、産総研・金高、近藤、中山、笹川、コニカミノルタとの共同研究である。また、光硬化性樹脂をご提供下さった東洋合成工業株式会社に感謝します。

References

(1) ACS Applied Materials and Interfaces 5 (17), 8628–8632 (2013).