

バイオインタフェース設計とバイオセンサーの高機能化

Bio-interface design for functionalized biosensors

○民谷 栄一(阪大工)

○Eiichi Tamiya (Osaka Univ.)

E-mail: tamiya@ap.eng.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

演者らは、生体分子が有する優れた分子識別機能を活用したバイオセンサーの研究を行っており、特に分子認識相互作用を捉える変換デバイスとして局在プラズモン共鳴デバイスや電気化学デバイスに着目したバイオセンシング研究を進めている。こうしたデバイス上の生体分子反応場(バイオインタフェース)の設計がバイオセンサー機能の最適化を計る上できわめて重要である。すでに CNT-FET を用いた電位検出型バイオセンサや CNT を多数成長させた電極を用いたアンペロメトリー型高感度イムノセンサーが開発している。ここでは、金ナノ構造を用いた局在プラズモン共鳴デバイスやプリンタブル電極デバイスを用いたバイオセンシングに関して紹介する。

2. 局在プラズモン共鳴および SERS インターフェース設計とバイオセンシング

セラミックナノ粒子を金薄膜チップ上に単層に形成させ、金をこの粒子にキャップ状に被覆した局在プラズモンチップを作成し、これをバイオセンサーとして用いた。これは1チップ上に 300 のセンシングスポットを形成させ、免疫グロブリンなどのマルチ計測に成功している(*Anal. Chem.* 78,6465, 2006)。また、アルミナの電解処理によって形成されたナノホールアレイに金を被覆した金ナノ構造体を作製し、この特性を利用した光学バイオセンシングへの応用 (*Anal. Chem.* 79, 1855, 2007) やシリコン基板上に酸化シリコン薄膜を形成し、金ナノ粒子を配置させ LSPR と薄膜干渉のカップリング効果を利用したバイオセンサーの提案も行った (*ACS Nano* 3, 446, 2009)。このチップ上の金ナノ粒子を連結した構造にし、プラズモン共鳴吸収をより高感度にしたタンパクセンシングも行った (*Anal. Chem.*, 82, 1221, 2010)。さらに、ナノインプリント法を用いて量産可能な LSPR チップの開発にも成功しており、LSPR チップの実用に向けた取り組みも行なっている(*Anal. Chem.*, 84, 5494, 2012)。一方、LSPR チップを用いて細胞機能解析する細胞チップの研究も進展させ、抗体産生細胞の探索や遺伝子疾患の診断に応用している。チップと異なり、金属ナノ粒子そのものを細胞(幹細胞など)に取り込ませ、生きたままの状態での細胞内情報を得るために、表面増強ラマン散乱分光(SERS)の手法を用いた。その結果、幹細胞から心筋細胞への分化のステージに依存したスペクトルの検討を行ない、*in vivo* イメージングへの可能性を示した (*PLoS ONE*, 6(8) e22801, 2011)。

3. プリンタブル電極インターフェース設計と POCT バイオセンサー

一方、バイオセンシングの実用化を進めるうえで、種々の現場での迅速診断を可能とする POCT 診断デバイスが求められている。そこで、演者らが、新たに独自に開発した印刷電極とモバイル型の電気化学計測装置を用いて、独自に創案した遺伝子、タンパク電気化学検出手法に応用した。まず、遺伝子センサーでは、DNA 結合性の電気化学メディエーターを用い、電極に DNA プローブを固定せずに DNA ハイブリダイズや増幅プロセスをリアルタイムに測定する新たな測定原理を提案実証した。すなわち、DNA 増幅に伴い、メディエーターが DNA に取り込まれ、電極への電子移動が阻害される。その結果、電流値減少量が DNA 量と相関する(特許第 3511596 号など)。また、遺伝子増幅プロセスの迅速化を図るためにマイクロ流体を複数の固定ヒータ上を往復しながら迅速に遺伝子増幅を行なうことも実現した(特許第 4273252 号など)。この流路内の電極により増幅遺伝子をセンシングするデバイスも構築した。このセンサーを用いて各種現場を想定した POCT デバイスとして、食中毒サルモネラ、大腸菌 O-157、炭疽菌、院内感染 MRSA 菌、歯周病菌(口腔液) インフルエンザ(鼻腔液) 肝炎ウイルス(血液) *ApoE*(アルツハイマーリスク因子)などに応用した。

また、タンパクセンサーではこれに特異的に結合する抗体分子にハイブリッドした金ナノ粒子に着目し、これらの電気化学シグナルを捉える新たな方式である GLEIA (Gold Linked Electrochemical ImmunoAssay) 法を提案し、実証した(特許 PCT/JP2007/056992, *Electroanalysis* 20,14,2008 など)。このデバイスを用いて血液中のインシュリン(糖尿病) CRP (炎症マーカー) 唾液試料を用いた唾液 IgA (ストレス)、尿試料を用いたアルブミンや IgG (腎機能) ゴナントロピン(妊娠ホルモン) アンジオテオシン(血圧調節ホルモン)に応用した。

さらに、アルツハイマー病に関わるアミロイドの凝集を分子内のチロシン残基などの電気化学活性を指標に非標識かつリアルタイム計測できることも示した。これを用いて凝集進行の早い A β アミロイド 42 の電流値の減少が凝集度に相関することが示された(特許第 4065955 号, *J. Am. Chem. Soc.* 127, 11892, 2005 など)