

マイクロ流路中でのレーザー光誘起熱的相転移による 極微量タンパク質検出法の開発

Laser-induced Thermal Phase Transition in a Micro Channel and Development of Detection Method for Extremely Low-abundance Proteins

○植田 真由^{1,2}, 西村 勇姿^{1,2}, 山本 陽二郎³, 床波 志保², 飯田 琢也^{1,*}

¹ 阪府大院理, ² 阪府大院工, ³ グリーンケム株式会社

○Mayu Ueda^{1,2}, Yushi Nishimura^{1,2}, Yojiro Yamamoto³, Shiho Tokonami², Takuya Iida^{1,*}

¹ Grad. Sch. Sci. & ² Grad. Sch. Eng. of Osaka Pref. Univ., ³ GreenChem Inc.

*E-mail: t-iida@p.s.osakafu-u.ac.jp

近年, タンパク質を対象とした迅速・高感度・ラベルフリーなバイオセンサの需要が予防医療・食品検査などの分野で高まっている. 代表的な検査手法として知られる ELISA 法[1]は, 特異的・定量的なタンパク質検出法だが, 熟練した技術を要求される蛍光標識が必要であり検出時間も数時間を要する. 一方で, 常温でも強い光吸収・光散乱・局在電場を生じる金属ナノ粒子の特徴的な光応答を利用した検出技術も盛んに研究されている. 例えば, 金属ナノ粒子をポリマービーズ表面に高密度に固定した金属ナノ粒子固定化ビーズ(MNFB)[2]は, 紫外から赤外に渡る非常にブロードな波長域で光と強く応答する. また, 液滴中に分散した MNFB は近赤外レーザーの照射により高効率に発熱する. これによりレーザー集光点付近で溶媒の熱的相転移(沸騰)が起きバブルが発生し, それに伴う対流により MNFB を含めた分散質の集合が可能となる. 一方, タンパク質の熱変性を通じて, 局所的な光学観測により pg 程度の微量なタンパク質でも検出できる可能性が示された[3]. しかしながら, この原理を実際の微量検出に応用するにはレーザー照射点近傍に高確率でタンパク質が存在する状況を準備する必要がある. そこで, 狭小空間で流れのある場にプローブとしての MNFB と被検出物質であるタンパク質を誘導すれば, この問題を克服できると着想した.

本研究では, このような着想の下, マイクロ流路に注目し, シリンジポンプで生成した流れによりレーザー照射点近傍に MNFB とタンパク質を誘導して, 光誘起バブルと対流による集合現象を通じた微量検出の可能性を探った(図 1). 前段階として, タンパク質無しの場合に流路内での光誘起バブルの発生条件や, 流れが集合現象に及ぼす影響を調べ(図 2(a)), これらがレーザー光による光圧と流路内の流速に依存することを確認した. この予備実験から集合化の最適条件を見出し, タンパク質添加の下で同様の実験を試みた結果, 図 2(b)に示すようにタンパク質が存在する場合のみ, 光誘起バブルが激しく多数生成するという興味深い現象(マルチ光誘起バブル)を確認することができた. これはタンパク質の起泡性と空気変性によるものと考えられ, 先行研究[2]より 1 桁低い濃度(50 ppm)でもマルチ光誘起バブルを通じてタンパク質を検出できる可能性を示した. 光誘起バブルとタンパク質の特性を利用して更なる実験条件の工夫をすることで, 最先端の検査キットより 2 桁も低濃度な 0.005 ppm(観測領域で約 34 fg)でも実用レベルの十数分以内に検出できる可能性も解明した. これらの結果はレーザー光誘起の熱的相転移を利用してラベルフリーかつ迅速・高感度なタンパク質センサの新原理を提供する成果であり, 医療応用・食品検査などの幅広い分野における新機軸を与えるものと期待される.

[1] Murdock, R. C. et al., *Anal. Chem.* **85**, 11634 (2013)

[2] S. Tokonami et al., *J. Phys. Chem. C* **29**, 15247 (2013).

[3] Y. Nishimura, S. Tokonami, T. Iida et al., *J. Phys. Chem. C* **118**, 18799 (2014).

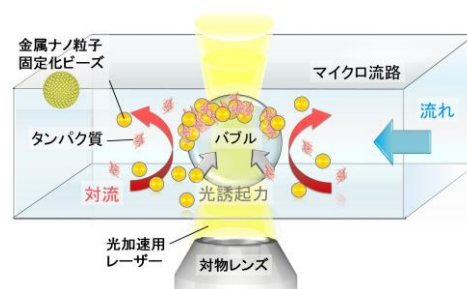


図 1: マイクロ流路中での光誘起集合化の概念図

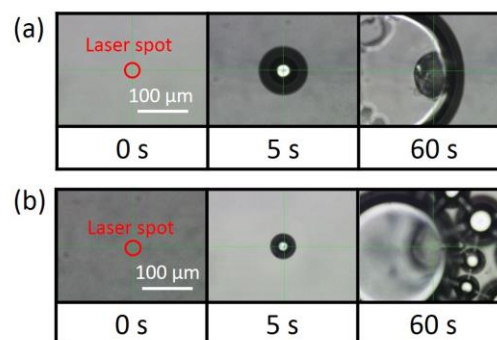


図 2: レーザー照射開始から 1 分間の様子

(a) MNFB のみを流路に導入した場合

(b) MNFB とタンパク質を導入した場合