

酸化亜鉛プラズモニクチップを用いた サンドイッチ型高感度イムノセンシング

Sensitive Immunosensing with a Sandwich Assay on the ZnO-coated Plasmonic Chip

○田和圭子¹、角谷真詩¹、笹川知里¹、筋野拓馬²、中澤光²、梅津光央²

(1. 関西学院大理工、2. 東北大工)

○Keiko Tawa¹, Masashi Sumiya¹, Chisato Sasakawa¹, Takuma Sujino², Hikaru Nakazawa², Mitsuo Umetsu² (1.Kwansei Gakuin Univ., 2.Tohoku Univ.)

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

迅速な高感度イムノセンシングを行うことのできる表面プラズモン励起増強蛍光 (SPF) センサーチップの開発を目指し、酸化亜鉛に特異的に結合する抗体断片を利用した二重特異性抗体を用いて、酸化亜鉛コーティングプラズモニクチップについて研究を進めてきた。これまでに、チップ上で 1pM 以下の腫瘍マーカー Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) を高感度に検出することができた[1]。しかしながら、このアッセイではターゲットである EGFR を予め蛍光標識しており、実用化のためには蛍光標識検出抗体を用いたサンドイッチアッセイとする必要がある。本研究では、サイトカイン Interleukin-6 (IL-6) をターゲットとし、酸化亜鉛コーティングプラズモニクチップ上に二重特異性抗体を捕捉抗体、蛍光標識抗 IL-6 抗体を検出抗体としたサンドイッチアッセイを行った。そして、従来のサンドイッチアッセイ[2]より迅速かつ高感度な IL-6 検出に取り組んだ。

ピッチ 400 nm の 1 次元周期構造をもつモールド (NTT-AT 製) を用いて、光ナノインプリント法によりレプリカを作製した。これに銀を膜厚およそ 120 nm、酸化亜鉛を膜厚 25 nm になるように成膜した (Fig. 1)。サンドイッチアッセイでは、溶液量は 10 μ L で、抗酸化亜鉛-抗 IL-6 二重特異性抗体、濃度調製した IL-6、Alexa647 標識抗 IL-6 抗体を順に注入し、アッセイ時間は 30 分以内であった。SPF 計測では、波長 633 nm の He-Ne レーザー光を用い、表面プラズモン共鳴角に入射角を固定し、検出角に対する蛍光強度を光電子増倍管で計測した。

本プラズモニクチップでは共鳴角は 0 度近くとなったため入射角を 0 度に固定し、蛍光強度はピーク位置の検出角 8 度で評価した (Fig. 2)。その結果、1pM 以下の濃度の IL-6 について定量的な評価ができた。以上より、サンドイッチアッセイを用いた系で、少量の試料かつ迅速なアッセイで fM レベルの高感度検出を実証できた。

【謝辞】本研究は科研費基盤研究(B)(25286032)によるものである。光硬化性樹脂をご提供くださった東洋合成工業(株)に感謝します。

References

1. K. Tawa, M. Umetsu, H. Nakazawa, T. Hattori, I. Kumagai, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 5, 8628 (2013).
2. M. Tsuneyasu, C. Sasakawa, N. Naruishi, Y. Tanaka, Y. Yoshida, K. Tawa, *Jpn. J. Appl. Phys.* 53, 06JL05 (2014).

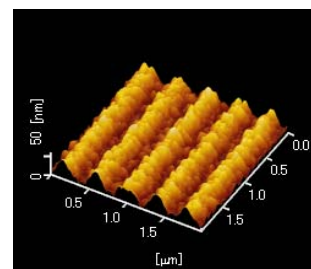


Fig. 1 プラズモニクチップの AFM 像

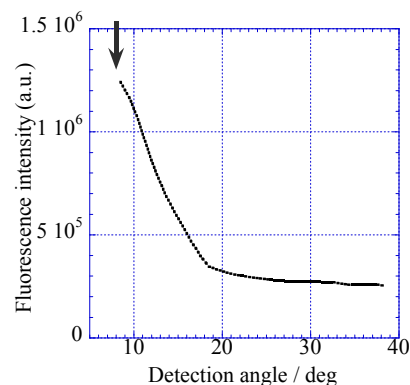


Fig. 2 100 fM の IL-6 アッセイにおける検出角に対する蛍光強度プロット。