

ガラスマルチキャピラリを用いた バイオセンサの高感度化に関する検討

Sensitivity improvement of glass multi-capillary based biosensors

東北大医工¹, 東北大工² ○(M1)奥山 泰平¹, 片桐 崇史², 松浦 祐司¹

Tohoku Univ. Graduate School of Biomedical Engineering¹, Graduate School of Engineering²,

○(M1) Yasuhira Okuyama¹, Takashi Katagiri², Yuji Matsuura¹

E-mail: yasuhira.okuyama.p8@dc.tohoku.ac.jp

1. はじめに

臨床検査における微量タンパク質の定量手法として免疫学的測定法が広く用いられる。通常は容量 100 ~ 300 μL のウェルの壁面における吸着反応が用いられるが、その検出限界は数十 pg/mL であり、より高感度なセンサの開発が必要である。そこで本研究ではガラスマルチキャピラリを利用した蛍光測定法を検討する。キャピラリの微小空孔内壁に試料を吸着させることによる吸着面積の増大と励起光と検出光の長手方向への伝搬により高感度化が期待できる。今回は本センサの検出感度向上に関する取り組みについて報告する。

2. 感度特性

Fig. 1 に測定系及び使用したキャピラリの断面写真を示す。特性評価ではビオチンと蛍光標識したストレプトアビジンを用いた擬似的な免疫学的測定法のプロトコルを使用した^[1]。白色光源からバンドパスフィルタとダイクロイックミラーを介して 488 nm を中心波長とする励起光をキャピラリに入射する。キャピラリ内で発生した蛍光はダイクロイックミラーを透過し、分光器により検出される。

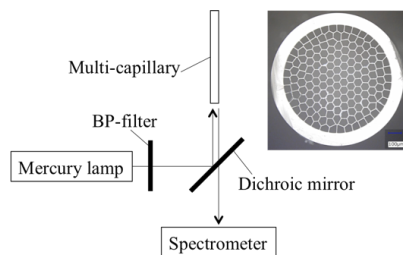


Fig.1 Measurement setup.

本実験系における検出光強度を、Lambert-Beer の法則と蛍光強度関係式を用いて数式化した結果を(1)式に示す。

$$I = \frac{I_0 \mu a \rho \phi \eta}{\mu a \rho + \alpha_f r} \left[1 - e^{-\frac{(2\mu a \rho + 2\alpha_f) l}{r}} \right] \quad (1)$$

ここで、 I_0 : 励起光強度、 μ : 蛍光物質の吸収係数、 ρ : 検体の濃度、 ϕ : 量子収率、 η : 集光効率、 α_f : ファイバの減衰定数、 r : 空孔半径、 l : キャピラリ長、 a : 比例定数である。(1)式より、空孔半径 r が小さくなるほど高感度となることが分かる。また長さ特性は、最大値に向かって漸近する関数に従うことが確認できる。

Fig. 2 にマルチキャピラリをカットバックして蛍光強度を測定した結果を示す。キャピラリが長いほど抗体吸着量は増加するが、光の伝送損失により長さ 5 cm 程度で感度が飽和するのが分かる。検出光強度のばらつきは主にマルチキャピラリの構造再現性に起因する。理論曲線は(1)式から未知の値 μa をパラメータとしてフィッティングにより求めた。

次に、マルチキャピラリの空孔径が感度に及ぼす影響について調査を行った。Fig. 3 に長さ 6 cm、外径約 1 mm で空孔径がそれぞれ 35, 55, 90 μm のマルチキャピラリおよびシングルキャピラリを用いて反応を行い、蛍光強度を比較した結果を示す。縦軸は蛍光強度、横軸はマルチキャピラリの減衰定数 α_f と空孔半径 r を掛け合わせた値となっている。結果よ

り、(1)式で示されたように空孔半径 r が小さくなるほど蛍光強度は大きくなり、反比例の関係にあることを確認した。

Fig.4 にガラスウェルとマルチキャピラリを用いて測定した蛍光強度の比較を示す。マルチキャピラリを用いることにより蛍光強度は約 70 倍に増強された。これより、マルチキャピラリを用いることの優位性が確認された。

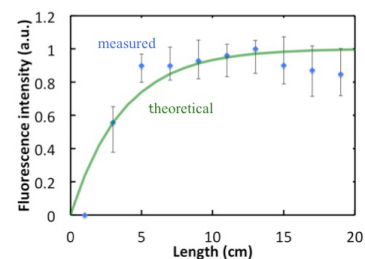


Fig.2 Fluorescence intensity as a function of capillary length

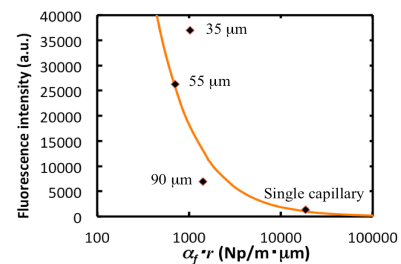


Fig.3 Fluorescence intensity as a function of bore radius

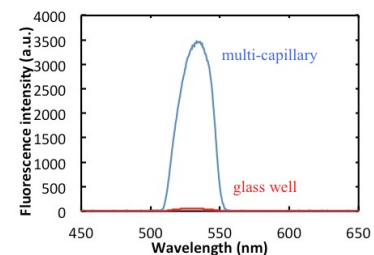


Fig.4 Measurement of the enhance effect

3. まとめ

本研究では、マルチキャピラリを用いた微量タンパク質検出用のバイオセンサの高感度化について検討した。理論検討と実験結果から、空孔径が小さいほど検出感度が向上することが明らかとなり、従来法の約 70 倍の感度を得られることを確認した。更なる高感度化のためにはキャピラリの伝送効率と集光効率の改善が必要である。

参考文献

[1] D. J. J Hu, et al., "Photonic crystal fiber-based interferometric biosensor for streptavidin and biotin detection", IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron. 18, no.4, pp. 1293-1297, 2012