

電気化学インピーダンス法によるマルチセンシング平行平板型電極の開発

Development of multi-sensing parallel plate electrodes
for electrochemical impedance spectroscopy東京海洋大学¹, NIMS² ○本田 陽翔¹, 大貫 等¹, 津谷大樹², 呉 海雲¹, 遠藤英明¹Tokyo Univ of Marine Sci & Tech.¹, National Institute for Material and Science²°Y. Kusaka¹, H. Ohnuki¹, D. Tsuya², H. Wu¹, H. Endo¹

E-mail: t152060@edu.kaiyodai.ac.jp

【はじめに】

我々は電気化学インピーダンス (EIS) を用いたバイオセンサの開発を行ってきた。一般的に EIS によるバイオセンサでは楕円電極を用いたものが多くみられる。しかし、電流密度解析によると電極作製時に乱れや欠陥が最も入りやすいエッジ部分に電流が集中しており、安定で平滑な楕円中央部の電荷の授受への寄与が少ないことが分かっている。これまでの研究ではマイクロギャップ構造をもつ平行平板型電極 (PPE) を作製し滑らかな電極表面の寄与を最大化させることで、従来の楕円電極を用いたバイオセンサよりも安定した再現性を得ることに成功した (Fig. 1)。この図に示すように三個の異なる試料での計測でほぼ一致する結果を得た。

【解決すべき課題】

一方で、インピーダンス型バイオセンサ全般の課題として非特異吸着によるバックグラウンドでのインピーダンス上昇の影響が完全に除去できていない。平行平板型構造を用いたバイオセンサにおいてもプローブ分子 (検出対象と特異的に結合するタンパク質) と検出対象の特異吸着によるインピーダンス上昇の他に非特異吸着によるインピーダンス上昇の影響が避けられない。

この課題を解決するため、本研究では同一基板上に二つの電極を作製し、その一方にプローブ分子とブロッキング分子の固定化を行い、もう一方にはブロッキング分子のみ固定化した表面を形成することで課題解決を試みた。この基板を用いることにより、同一条件下で作製された基板において一度に非特異吸着と特異吸着によるインピーダンス上昇が測定でき、前者から後者を差し引くことで特異吸着のみによるインピーダンス上昇を知ることができると考えた。

【実験方法および結果】

テンパックス基板上に直径 2 mm の円形 Au パターン電極を二つ蒸着し、各電極の縁を厚さ 1 μm の SiO₂ で覆った。これと、同様に作製したもう一枚の Au パターン電極 (直径 3 mm, SiO₂ 1 μm) と向かい合わせてはり合わせることで、基板上的各電極を 2 μm のギャップを持つ平行平板構造とした。本基板は NIMS 微細加工 PF で作製した。直径 2 mm の方の電極を作用極として次の処理を行った。まずピラニア溶液 (H₂SO₄ : H₂O₂ = 3 : 1) 洗浄を 2 分間行った電極表面に自己組織化膜 (MUA : MCH = 1 : 3) を成膜させ、その末端を EDC/NHS 溶液に浸漬して NHS 末端に置換して活性化した。その後同一基板上の一方の電極にプローブ分子として IgG 受容体である Protein G' を固定化したのち BSA (ウシ血清アルブミン) でブロッキング処理をした。もう一方の電極には Protein G' を固定せずに BSA でブロッキング処理をした (Fig 2)。そして両電極を同時に IgG 溶液に浸漬し両者のインピーダンス上昇量の差をとった。

Fig. 3 は Protein G' 固定化後の試料の AFM 観察像である。比較的大きな Au 粒子の表面に 20 nm 程度の Protein G' クラスターが吸着していることが分かった。

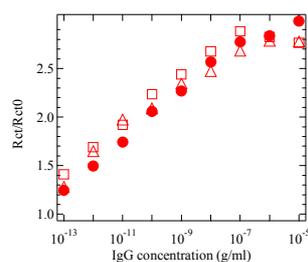


Fig. 1 Reproducibility of PPE

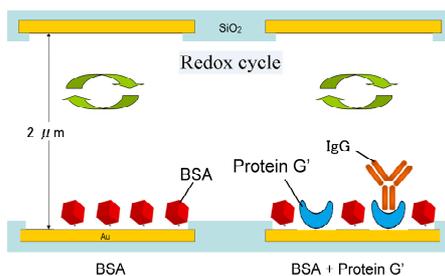


Fig. 2 The design of multi-sensing PPE

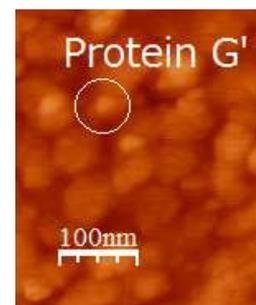


Fig. 3 AFM image