

プラズモニックチップによるカンジダ菌検出のための アッセイと界面調製

Assay and interface preparation for detection of Candida bacteria using the plasmonic chip

関西学院大理工¹, 信州大医², 東北大工³

○(M1)志水 星歌¹, 栗田 浩², 梅津 光央³, 中澤 光³, 田和 圭子¹

Kwansei Gakuin Univ.¹, Shinshu Univ.², Tohoku Univ.³,

°Seika shimizu¹, Hiroshi Kurita², Mitsuo Umetsu³, Hikaru Nakazawa³, Keiko Tawa¹

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

唾液中の口腔カンジダ菌が免疫力評価の重要なマーカーであることが示されてきたが¹⁾、口腔カンジダ菌数の評価がサンプル採取後、その場評価できないことが課題となっている。これまでに我々のグループでは、プラズモニックチップ（波長オーダーの周期構造レプリカに金属薄膜を成膜したチップ）上で生成される表面プラズモン共鳴（SPR）場を利用した蛍光増強法、格子結合型表面プラズモン励起増強蛍光法（GC-SPF）法を用いてカンジダマンナンの迅速かつ高感度検出に取り組んできた。本研究では、カンジダマンナンの定量評価に用いた光学系とアッセイを、ヒト唾液検体中のカンジダ菌検出に応用し、カンジダ菌アッセイの開発と界面調製を検討した。

ピッチ 500 nm の周期構造を持つ 2 次元ホールアレイ型のレプリカを UV ナノインプリン
ト法で作製し、スパッタ法で Ti/Ag/Ti/SiO₂ を成膜してプラズモニックチップとした。チッ
プに、ポリドーパミン膜を調製して Protein G を結合させたものと直接 Protein A 断片を結合
させた 2 種類の界面を調製した。抗 C.albicans 抗体を界面に固定化後、熱処理をしたヒト唾
液検体またはコントロール溶液を注入し、Alexa 647 標
識抗体を検出抗体としてサンドイッチアッセイを構築
した。波長 633 nm のレーザー光を用い、反射率計測に
より SPR 角を決定後、入射角を SPR 角に固定し、検出
角に対する蛍光強度を測定した。Protein G 界面におけ
る検体とコントロールとの蛍光強度差を図 1 に示す。
ばらつきがあるものの有意な蛍光強度差が見られ、検
体中のカンジダ菌を検出することができた。

〔謝辞〕 光硬化性樹脂を提供頂いた東洋合成工業株式
会社に感謝いたします

1) Hayashi K., Kurita H et al., *J Oral Maxillofac Surg Med*

Pathol 29, 65 (2017). _

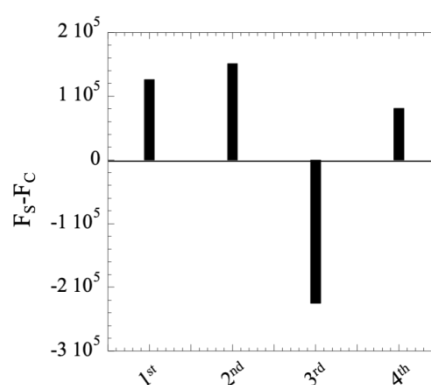


Fig.1 Subtraction of fluorescence intensities for sample (F_s) and for control (F_c) plotted against the number of measurement.