

電気化学インピーダンスバイオセンサにおける非特異吸着の除去

An approach for elimination of non-specific adsorption on electrochemical impedance biosensor

東京海洋大学¹, NIMS² ○本田 陽翔¹, 大貫 等¹, 津谷 大樹², 呉 海云¹, 遠藤 英明¹

Tokyo Univ. of Marine Sci. & Tech.¹, National Institute for Materials Science²

○H. Honda¹, H. Ohnuki¹, D. Tsuya², H. Wu¹, H. Endo¹

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

【研究内容】

我々はこれまでに電気化学インピーダンス法（以下、EIS）を用いた高感度バイオセンサの研究を行ってきた。EIS バイオセンサは検出対象が電極表面上に固定化されたプローブ分子（検出対象に対して特異吸着を起こす分子）と吸着することによる表面抵抗の変化をシグナルとするセンサである。しかし、課題としてシグナルに対する非特異吸着の寄与が除去されていないことが挙げられる。非特異吸着は、プローブ分子以外の場所へのさまざまな分子吸着が主となっている。本研究では、シグナルから非特異吸着の寄与を差し引き、特異吸着による寄与のみを取り出すための測定系および評価手法を開発した。本研究では Protein G^{*} をプローブ分子に用いた IgG センサを取り上げた。

本研究では課題解決に向けて三つのアプローチを行った。第一は同一基板上に特異吸着と非特異吸着を生じるプローブ電極と、非特異吸着のみが生じるブランク電極を設けたことである。ブランク電極からは非特異吸着の寄与のみを見積もる。第二はコンダクタンスで評価を行ったことである。一般に EIS バイオセンサではプローブ電極の抵抗上昇率/量をシグナルとしてきた。しかし、非特異吸着の寄与を差し引くにはこの評価方法は適切ではない。なぜなら EIS バイオセンサの電極間は本来、並列回路でモデル化されるべきであり抵抗値はそのまま差し引きできないからである (Fig. 1)。そこで本研究では抵抗の逆数であるコンダクタンスにより評価することでプローブ電極上の非特異吸着サイトが占める割合を求め、特異吸着の寄与を求める評価式を新たに提案する。第三は独自開発した平行平板形電極を採用したことである。平行平板形電極は電極間個体差が少なく、再現性に優れることがこれまでの研究で分かっており、二電極を比較する本研究に適している。

【実験方法と結果】

直径2 mmの円形平板Au電極をSiO₂ 基板上に二つ蒸着し各電極の縁を厚さ1 μm のSiO₂ で覆いそれぞれの電極をプローブ電極とブランク電極として表面修飾をした。各電極に向かい合わせる円形平板Au電極は各直径3 mmとして別基板にパターニングした。まずピラニア溶液（H₂SO₄:H₂O₂=3:1）に浸漬させ電極表面を洗浄した後、自己組織化単分子膜（SAM, MUA:MCH=1:3）を成膜させた。次に、MUAのカルボン酸末端をNHS末端に活性化するためにEDC/NHS溶液に浸漬した。プローブ電極には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、未反応のNHS末端をウシ血清アルブミン（BSA）でブロックした。もう一方の電極にはProtein G^{*}を固定せずすべてのSAM末端にBSAを固定化して非特異吸着のみが生じるブランク電極とした (Fig. 2)。その後両電極のシグナルを評価式に代入して特異吸着をしたProtein G^{*}の割合を得た (Fig. 3)。

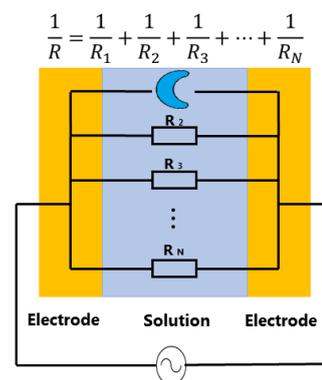


Fig. 1

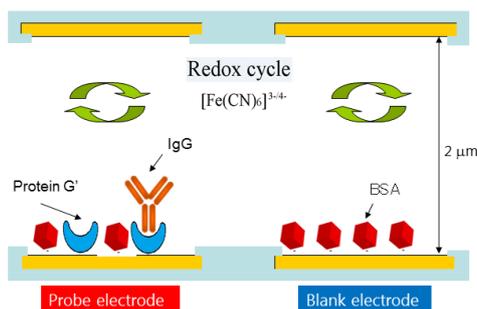


Fig. 2

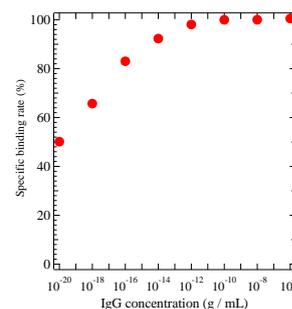


Fig. 3