プラズモニックセンサーチップによるカンジダマンナンの迅速・高感度検出

Rapid and sensitive detection of Candida mannan using the plasmonic sensor chip

関西学院大理工 [1]，信州大医 [2]
○(B) 志水　星歌 [1]，栗田　浩 [2]，當麻　真奈 [1]，田和　圭子 [1]
Kwansei Gakuin Univ. [1], Shinshu Univ. [2],
°Seika Shimizu[1], Hiroshi Kurita[2], Mana Toma[1], Keiko Tawa[1],
E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

唾液に含まれる口腔カンジダ菌が免疫力を評価する重要なマーカーであることがこれまでに信州大学の栗田教授らによって示されてきた [1)]。唾液中の口腔カンジダ菌数は ELISA 法や細菌培養検査法によって評価されているが、迅速かつ簡便な検出方法が求められている。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（GC-SPF）法を用いてバイオマーカーの高感度検出に取り組んできた。本研究では、カンジダ属菌の細胞壁最外層に存在するタンパク質であるカンジダマンナンをマーカーとし、プラズモニックチップ上にサンドイッチアッセイを構築して、GC-SPF 法によるカンジダマンナンの定量評価を行った。

ピッチ 480 nm の周期構造をもつ 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/SiO_2 を成膜してプラズモニックチップとした。ポリドーパミン膜を成膜したチップに Protein G を結合し、抗カンジダマンナン IgG 抗体を固定化した。その後、陽性（マンナン 1.0 ng/ml）または陰性（マンナン 0 ng/ml）コントロール溶液を注入し、Alexa647 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。マンナン計測では波長 633 nm のレーザー光を用い、入射角に対する反射率計測より SPR 角を決定した後、入射角を SPR 角に固定し、検出角に対する蛍光強度スペクトルを測定した。マンナンの検出結果を図 1 に示す。測定した蛍光強度の変動係数は 0.10 程度となり、再現性の高い陽性検出に成功した。

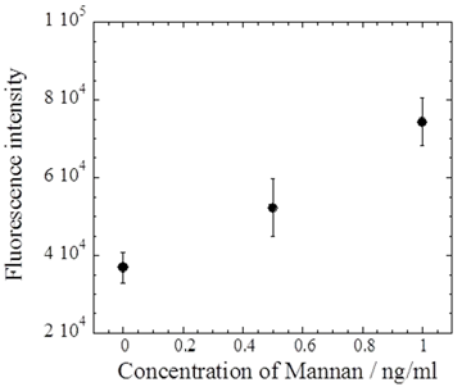

Fig.1 Fluorescence intensity plotted against mannan concentration.

[謝辞] 光硬化性樹脂を提供頂いた東洋合成工業株式会社、抗カンジダマンナン抗体を提供頂いたニプロ株式会社に感謝いたします。

1) Hayashi K., Kurita H et al., Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology **29**, 65. (2017)