トポロジカル絶縁体 THz-SPR による 糖鎖・レクチン特異結合の検出

Non-labeling Detection of Sugar Chain-Lectin Specific Bonding Using THz-SPR of Topological Insulator

東大院工¹ ^O(D) 杉本雛乃¹, 田畑 仁¹

¹School of Engineering, University of Tokyo ^OHinano Sugimoto¹, Hitoshi Tabata¹

E-mail: sugimoto@bioxide.t.u-tokyo.ac.jp

1. 序論

テラヘルツ(THz)帯域(0.1~10 THz)には、分 子間結合に起因する数多くの重要な振動モー ドが存在し、THz 光を利用した非標識バイオセ ンサの実現が期待されている[1]。

本研究では、分子間振動共鳴と表面プラズモ ン共鳴の二つの共鳴現象の相乗効果を目指し て、トポロジカル絶縁体を用いた THz 帯域表 面プラズモン共鳴(SPR)法を実施した。本手法 により生体関連特異的分子間結合の非標識検 出が期待される[2,3]。分子間振動に合致した THz 波帯域での分光により、従来型の可視光域 SPR 法では困難であった分子種・結合種の特定 を可能にする。加えて、フェルミレベル近傍の ディラックポイントで直線的かつ急峻な電子 状態密度変化を示すトポロジカル絶縁体との 融合により、従来のセンシング技術にない高感 度・非標識センシングの実現が期待できる。前 回、解離平衡定数(Kd)の小さな(10-15) アビジ ン-ビオチン特異結合の非標識直接観察につい て報告した[3]。本発表では、よりK_dの大きな (10⁻²-10⁻⁵) 糖鎖・レクチン特異結合に関して 測定結果について紹介する。

2. 実験と結果

パルスレーザー堆積法を用いてサファイア 基板上に Bi₂Se₃ 薄膜を製膜し、フォトリソによ り幅 W = 64 μm の Bi₂Se₃ マイクロリボン構造 を作製した。テラヘルツ直線偏光をリボン構造 に対し垂直透過条件で、0.6 THz 付近で透過率 低下のディップが見られ、表面プラズモン共鳴 の発生を確認した。

次に、疎水性 PVDF メンブレン膜を 50 μM のコンカナバリンA(Con-A)溶液に1時間浸し、 2.5%グルタルアルデヒド溶液に10分間浸すこ とで、Con-Aを膜に固定した。その後、膜を超 純水に5分間浸すことを3回繰り返し、膜に未 固定の Con-A等を洗浄した。次に、 Con-Aを 固定した膜を単糖水溶液に1時間浸した。な お、本実験の単糖溶液には、Con-A に特異的に 結合する D(+)グルコース(Glc)および D(+)-マ ンノース(Man)と、Con-A に結合しない N-アセ チル-D(+)-グルコサミン(GlcNAc)および D(+)-ガラクトース(Gal)の 10 mM 溶液を使用した。 各膜を超純水に5分間浸漬洗浄後、膜を約1日 間乾燥処理した。Bi₂Se₃ に膜を密着させ(図 1(a))、垂直方向のテラヘルツ直線偏光の透過率 を測定した。また、Glcの濃度依存測定により、 定量評価も実施した。定性評価と同様の手順で、 Con-A 固定膜を 0.1, 1, 10, 100, 1000 mM の Glc 溶液に浸し、超純水洗浄したのち、十分に乾燥 させた。各膜を Bi₂Se₃に密着後、垂直方向のテ ラヘルツ直線偏光の透過率を測定した。

Con-A を各糖と作用させたメンブレンのテ ラヘルツ透過率を図 1(b)に示す。0.6-0.7 THz 付 近に透過率の低下が見られた。また、それぞれ の共鳴振動数変化を図 1(c)に示す。Con-A と特 異的に結合する Glc と Man では、共鳴振動数 が 0.03 THz 程度変化した。これは、特異的な 結合を、THz-SPR によって信号増幅し検出した と考えられる。また図 1(d)から、 Glc 濃度が 0.1-10 mM のとき、濃度が上がるにつれ共鳴振 動数が大きくなる傾向が見られた一方で、 10mM以上の時はほぼ変化しなかった。より結 合力の高いアビジン・ビオチン結合での同様の 実験と比較すると[3]、Glc 濃度 10mM 程度の ときに ConA との結合が飽和した可能性が考 えられ、より結合力の小さい糖鎖・レクチン特 異結合でも、結合そのものをとらえた可能性を 示唆する。



図 1 (a)実験の概略図 (b)各メンブレン/ Bi₂Se₃ マイクロリボ ンのテラヘルツ透過率 (c)共鳴振動数変化の定性評価 (d)共鳴振動数のグルコース濃度依存性

<参考文献>

- [1] S. Kawabe, M. Seki, and H. Tabata, Appl. Phys. Lett., vol. 108, no. 8, p. 081103, 2016.
- [2] P. Di Pietro et al., Nat. Nanotechnol., vol. 8, no. 8, pp. 556–560, 2013.
- [3] 杉本、他,第 68 回応用物理学会春季学術講演会 講演予稿集 (2021),18p-Z09-7