カーボンナノチューブによるコルチゾールバイオセンサの性能向上

Performance Improvement of Cortisol Biosensor based on Carbon Nanotube

東京海洋大¹, AIST², NIMS³ ○藤城志遥¹, 張民芳², 津谷大樹³, 呉海云¹, 遠藤英明¹, 大貫等¹

Tokyo Univ. of Marine Sci. & Tech.¹, National Inst. of Advanced Industrial Sci. & Tech.²,

National Inst. for Materials Science³

°S. Fujishiro¹, M. Zhang², D. Tsuya³, H. Wu¹, H. Endo¹, H. Ohnuki¹

E-mail: m194019@edu.kaiyodai.ac.jp

【はじめに】

カーボンナノチューブ(CNT)は高い導電性、大きな比表面積などの優れた特性を持つことが知られている。また、酸化処理を施した酸化CNTは表面に多くのカルボキシル基を有することから、それらを基に抗体などのタンパク質分子をCNT表面に固定することが可能である。これらの性質を利用し、これまでにCNTを電極部材や導電材として用いたバイオセンサの開発が行われてきた。しかし、酸化CNTを平坦なAu電極表面に成膜したセンサが自己組織化単分子膜(SAM)を成膜したセンサと比較して、どの程度の性能向上をもたらすかは、明確にされていない。

本研究では、Au表面に酸化CNTを成膜した試料とSAMを成膜した試料の2種類を用いてバイオセンサを作製し、電気化学インピーダンス(EIS)法を用いてセンサ特性の比較を行った。センサの作製にあたり、EIS測定において高い再現性を示す平行平板電極を採用し、ストレスホルモンの一種であるコルチゾールを検知するバイオセンサの作製を行い、センサの感度、再現性、選択性の評価を行った。

【実験方法】

テンパックス基板上に作用極として直径2mmの円形Auパターン電極を蒸着し、電極の縁を厚さ10μmのSiNで覆った。同様にして作製した直径3mm、絶縁層10μmのAu電極パターン基板(対極)を重ね合わせることで平行平板構造とした。

作用極、対極ともにピラニア洗浄を行った後、H₂O₂で酸化処理した酸化CNTをスプレーし、作用極に成膜した。酸化CNT膜成膜後にEDC/NHSカップリング処理を施し、抗コルチゾール抗体を酸化CNT膜上に化学結合させ、コルチゾールバイオセンサとした。SAMを用いた試料もSAM成膜後は同様にして作製し、センサとした。作製したセンサを異なる濃度のコルチゾール溶液に浸漬させ、EIS法を用いて浸漬後の電極の抵抗の変化を測定した。

Fig. 1 Schemes of parallel plate electrode surface

【結果】

酸化CNT(ox-CNT)及びSAMを用いた試料のセンサ特性をFig.2に示す。縦軸にコルチゾールと未反応時の抵抗を基準としたときの抵抗の上昇率、横軸にコルチゾールの濃度を対数表示で示している。コルチゾール濃度が上昇するに伴い、上昇率が線形的に増加していき、やがてコルチゾールとの吸着サイトが満たされ、上昇率が収束する。酸化CNTを用いた試料はSAMを用いた試料よりも高い上昇率を示すことから、高感度な特性を有していることがわかる。また、SAMを用いた試料の最高検出濃度が 10^{-8} mg/mLであるのに対し、酸化CNTを用いた試料は 10^{-6} mg/mL以上であり、SAMを用いた試料より高濃度域で広い検出領域を有する。これは、CNTの持つ優れた導電性や広い有効表面積に起因しているためと考えられる。さらに、酸化CNTを用いた試料を複数(A,B,C)作製し、それぞれの特性を調べた結果をFig.3に示す。いずれの試料も非常に一致した特性を示し、センサとしての高い再現性が確認された。また、コルチゾール以外の夾雑物質と反応させた際には、大きな抵抗の変化が見られず、コルチゾールのみに対する高い選択性が確認された。

Fig.2 Sensor characteristics of biosensors based on ox-CNT and SAM

Fig.3 Reproducibility of biosensors based on ox-CNT