

心筋トロポニン半連続計測のための
表面プラズモン増強蛍光 (SPF) イムノセンサ
Surface plasmon-enhanced fluorescence immunosensor
for semi-continuous measurement of cardiac troponin

医科歯科大 ○里村 結衣, 大石 紘希, 當麻 浩司, 荒川 貴博, 三林 浩二

Tokyo Medical and Dental Univ.

○Yui Satomura, Koki Oishi, Koji Toma, Takahiro Arakawa, Kohji Mitsubayashi

E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

【はじめに】

周術期心筋梗塞(perioperative myocardial infarction, PMI)は、非心臓手術後の主な合併症として知られ、早期発見が求められる。PMI では発症後に、3~4 時間でバイオマーカー「心筋トロポニン I(cardiac troponin, cTnI)」の血中濃度が上昇することから、PMI の早期発見には、cTnI 濃度の経時変化を連続的に評価する方法が有効である。そこで本研究では cTnI のモニタリングのため、高感度な「表面プラズモン増強蛍光(surface plasmon-enhanced fluorescence, SPF)センサ」および「pH 耐性を有する膜タンパク(ORLA85)を用いた感応部再生技術」を組み合わせ、cTnI 用半連続計測 SPF イムノセンサの開発を行った。

【実験方法】

まず、ガラス基板上に Au 薄膜(t: 44 nm)と Ti 薄膜(t: 3 nm)を成膜し、SPF 用の Au 基板を作製した。cTnI 用 SPF イムノセンサチップは、Au 表面上に pH 耐性を有する ORLA85 の自己組織化単分子膜を形成した後、ORLA85 の protein G 部に cTnI 用の補足抗体(cAb)を結合させ、作製した。SPF の測定は、励起光源 HeNe レーザー($\lambda = 633 \text{ nm}$)を、直角プリズムを通して Au 基板感応部に入射し、表面プラズモンポラリトンの共鳴による増強場によって励起されたセンサ感応部付近の蛍光をライトパイプにて集光し、蛍光検出器 Multi-Pixel Photon Counter (MPPC)にて行った。まず、cTnI 半連続測定の可能性を調べるために、イムノセンサの基礎特性(cTnI 測定の感度・選択性)を評価した後、感応部の再生による繰り返し測定を行い、再現性などを調べた。

【結果及び考察】

cTnI の半連続計測のために構築した cTnI 用 SPF イムノセンサの基礎特性評価を行ったところ、cTnI の定量(3.9-100 ng/ml, 検出限界 : 0.98 ng/ml)が可能で、他の心筋マーカー(creatine kinase-MB, myoglobin)に対しては出力を示さず、優れた選択性が得られた。また、本センサを用いた測定では、既存の enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法の 1/6 である 30 分で測定を完了することができ、cTnI 濃度の経時変化を評価できる可能性が示された。次に、glycine-HCl (pH 2)溶液の rinse によりセンサ感応部を再生し、cTnI の半連続測定を行ったところ、同一センサによる cTnI の繰り返し測定(C.V. = 1.8%, n = 5)が可能であった。今後は、初期の心筋梗塞の診断に必要な感度 (cTnI の閾値: 0.04 ng/ml)を達成するため、センサの更なる高感度化を進める。