３種の電気化学測定法を用いたコルチゾールバイオセンサの構築と比較

Construction and Comparison of Cortisol Biosensor Using Three Electrochemical Measurements

東京海洋大 [1]，NIMS [2]
○村田一樹 [1]，柴田恭幸 [1]，呉海云 [1]，遠藤英明 [1]，津谷大樹 [2]，大貫等 [1]
Tokyo Univ. of Marine Sci. & Tech. [1], National Inst. for Materials Science [2]
○K. Murata [1], T. Shibata [1], H. Wu [1], H. Endo [1], D. Tsuya [2], H. Ohnuki [1]
E-mail : m214017@edu.kaiyodai.ac.jp

【はじめに】

電気化学バイオセンサは生体起源の分子認識機構がもつ高い選択性と電気化学測定のもつ簡便かつ高感度さを兼ね備えたセンサであり、臨床診断検査や食品産業などにおいて広く実用化されている。電気化学測定法には電流量を測定するアンペロメトリー/ボルタンメトリー、抵抗値を測定するインピーダンス法(EIS)、電位を測定する電位差測定法など多岐に渡り応用されている。本研究では、ボルタンメトリーに分類されるサイクリックボルタンメトリー(CV)、微分パルスボルタンメトリー(DPV)と EIS の測定法に着目し、各々の測定法におけるセンサの構築と特性比較を行った。具体的には、電極表面上にストレスホルモンの一種であるコルチゾールを捉えるコルチゾール抗体を固定化し、吸着するコルチゾールによって引き起こす表面変化を CV、DPV、EIS で測定を行った。

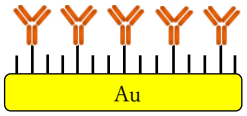

Fig. 1　Schematic picture of electrode surface

【実験方法】

ガラス基板上に作用電極として直径 3 mm の円形 Au パターン電極を蒸着し、電極の縁を厚さ 5 μm の SiN で覆った。この作用電極をピラニア洗浄した後、電極上に自己組織化単分子膜(SAM)を成膜した。成膜後に、抗コルチゾール抗体を化学結合させ、ブロッキング処理で非特異吸着の防止を行いコルチゾールセンサとした(Fig. 1)。作製したセンサを濃度の異なるコルチゾール溶液に浸漬させ、測定を行った。測定は作用電極、Ag/AgCl 参照電極(R)、白金電極(C)の 3 電極系で行い(Fig. 2)、CV、DPV 測定では Ag/AgCl 参照電極と作用電極間に電位を印加し、作用電極と白金電極間に流れる電流の変化を、EIS 測定は電極の電荷移動抵抗(R_{ct})の変化を測定した。

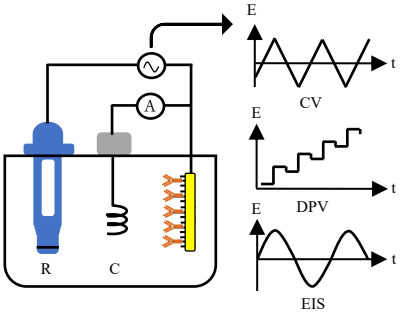

Fig. 2　CV, DPV, EIS measurements

【結果】

作製したセンサの濃度変化の CV 測定結果を Fig. 3 に示す。縦軸に作用電極と白金電極間に流れる電流値をとり、横軸に Ag/AgCl 参照電極に対する電位を示している。コルチゾールの濃度増加とともにピーク電流値の減少が確認できた。これは濃度増加に伴い、電極表面の抵抗が大きくなったことによるものと考えられる。我々は、CV 測定結果に加えて DPV、EIS での濃度変化の測定結果を比較し、各測定を利用したセンサの特性を報告する。また、作製したセンサの再現性や選択性の評価も報告する。

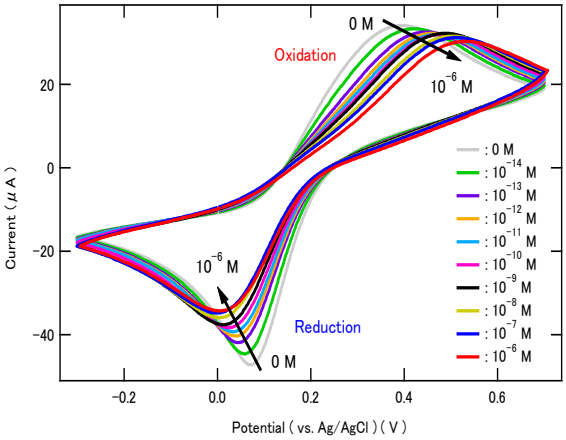

Fig. 3　Experiment results of CV measurement