差動計測による特異的バイオセンシングに向けた アプタマー機能化光干渉センサの特性評価

Characterization of aptamer specific biosensing by differential measurement using aptamer-functionalized optical interferometric sensors

豊橋技科大 [1]，○(B) 福岡 秀太 [1]，阪上 天斗 [2], Tan Wen En[3], Choi Yong-Joon[4], 野田 俊彦 [5], 澤田 和明 [6], 高橋 一浩 [7]

Toyohashi Univ. [1], , °Shuta Fukuoka[1], Takato Sakagami[2], Tan Wen En[3], Choi Yong-Joon[4], Toshihiko Noda[5], Kazuaki Sawada[6], Kazuhiro takahashi[7]

E-mail: fukuoka.shuta.ru@tut.jp

疾患に由来して変化するバイオマーカーと呼ばれるタンパク質の血中濃度を測定することで疾患の早期特定が可能となる。バイオマーカーの検査方法として実用化されている ELISA 法では、高度な知見と技術、高価な装置が必要であり検査に対する敷居が高い。小型で簡易なマーカー計測装置に向けて、本研究室では光干渉型 MEMS バイオセンサを提案している[SAB]。先行研究では光干渉型表面応力バイオセンサの自立膜表面に抗体を固定化し、前立腺腫瘍マーカー（PSA）の検出下限値として 100 ag/ml を実現している[maeda]。一方、MEMS 型バイオセンサでは自立膜の物理的応答や非特異吸着による応答を排除するために測定用と参照用センサによる差動計測が必要だが、測定用センサのみに抗体を固定化したため、膜の初期形状が均一ではないという課題が存在した。そこで、本研究では参照用と測定用が同じ条件で差動計測を行うため、センサ表面の荷電状態を均一にするアプタマー機能化センサに取り組んだ。

アプタマーは DNA の塩基配列を変更すると構造が大きく変化し分子に対する吸着能も変化する。また、アプタマーを構成する塩基は負電荷を有しており、その電荷量は塩基数で調整できるため塩基配列のみを変更すれば、電荷量は同じでも吸着能を待つものと持たないものを自立膜上に修飾できる。そのため、参照用と測定用センサの膜形状を均一化できると考えた。アプタマーを修飾し膜形状を測定した結果、PSA に特異性をもつ塩基配列（posi）と特異性のない配列のアプタマー（nega1,2）で反射スペクトルのピーク位置が一致していることを確認した（図１）。この結果から、膜の初期状態の均一化に成功したと言える。また、終濃度 1 ng/ml になるように PSA を滴下し応答量を測定する実験を行った。この実験の結果、塩基配列を 1 カ所変更した nega1 と posi アプタマーでは PSA への特異性に違いが得られ、選択的検出が可能であることが示された（図２）。また、抗原抗体反応に比べてアプタマーの応答量が大きいことが確認でき、センサの高感度化が示唆された。以上より、アプタマーで機能化した光干渉型 MEMS センサにより、バイオマーカーの差動計測実現の見通しが得られた。

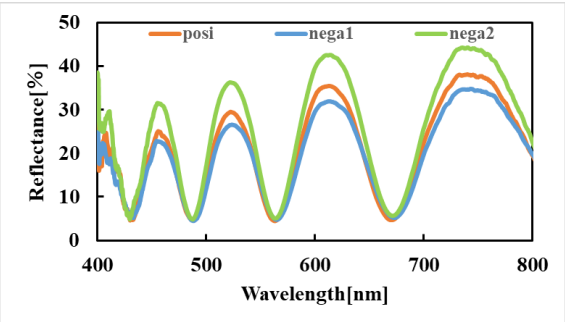

図１　反射スペクトル測定結果

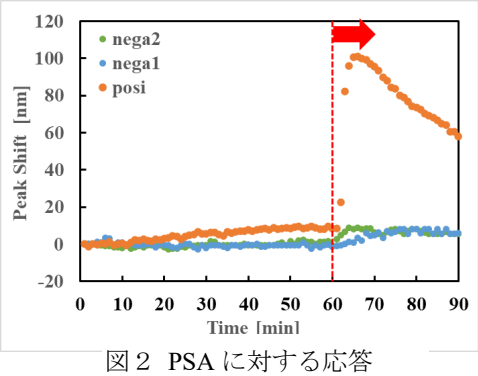

図２　PSA に対する応答