

格子結合型表面プラズモン共鳴を利用した高感度暗視野検出法の開発

Development of dark-field detection method with high-sensitivity using grating-coupled surface plasmon resonance

関西学院大理工¹, (B) 吉田 潤平¹, 〇名和 靖矩¹, 田和 圭子¹

Kwansei Gakuin Univ.¹

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance : SPR)による電場の増強効果は、蛍光を利用した高感度な分子検出に広く利用されている。我々は、格子結合型 SPR を利用した高感度イムノセンサーを開発するために、ガラス基板上に波長オーダーの格子(周期)構造を作製し、その上に金属薄膜をコーティングした“プラズモニックチップ”を用いて腫瘍マーカーや生活習慣病マーカーの高感度検出、および乳がん細胞の高感度マルチカラー検出を行ってきた。しかし、蛍光を利用した計測法は高い感度を有する一方で、蛍光標識抗体の調製が困難であったり、その非特異吸着が課題である。

本研究では、蛍光標識を利用せずに、格子結合型 SPR により増強した散乱光を検出する、高感度・非標識センサーの開発を目的とする。プラズモニックチップ上に配

置した試料を暗視野顕微鏡で観察することで実現する。散乱光の増強度を評価するために、粒径 200 nm の蛍光標識ナノ粒子(FluoSpheres™ Carboxylate-Modified Microspheres、F8811、Thermo Fisher Scientific Inc.) の暗視野顕微鏡観察を行った。使用したプラズモニックチップは、光硬化性樹脂を用いた光ナノインプリント法によりピッチ 480 nm の 1 次元周期構造を転写した後に、rf-sputter 法を用いて Ti、Ag、Ti、SiO₂を成膜することで作製した。膜厚はそれぞれ< 1、44、< 1、30 nm であった。作製したチップ表面を、3-アミノプロピル-トリエトキシシラン(APTES)を用いてアミノ化した後に、チップ上にカバーガラスを配置し、その隙間にリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で希釈したナノ粒子を含む溶液を注入した。5 分間静置後に、PBS で 2 回洗浄して観察を行った。Figure 1 に、プラズモニックチップの周期構造上と構造外に付着したナノ粒子の暗視野像を示す。プラズモン共鳴により、ナノ粒子由来の散乱光が増強され、高感度に観察できることが示された。この結果から、本手法が高感度・非標識センサーに応用可能であることが示唆された。

謝辞 光硬化性樹脂を提供いただいた東洋合成工業に感謝します。

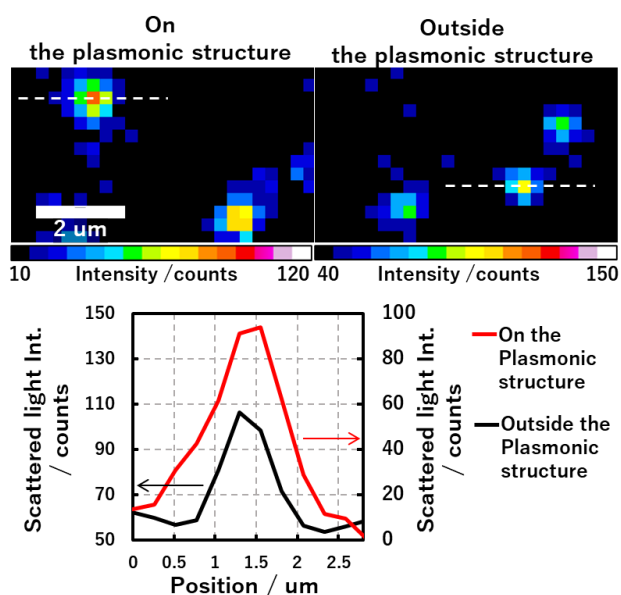


Figure 1. Darkfield images of fluorescent nano particles and the line profiles.