

プラズモニックチップによる SARS-CoV-2 Spike Protein の 高感度検出を目指したアッセイ開発

Assay development for high sensitive detection of SARS-CoV-2 Spike Protein using the plasmonic chip

関西学院大理工¹ °志水 星歌¹, 泰地 颯弥¹, 田和 圭子¹

Kwansei Gakuin Univ.¹, °Seika Shimizu¹, Toya Taichi¹, Keiko Tawa¹

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

世界的に広がった SARS-CoV-2 疾患 (COVID-19) は現在, ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 検査によって高感度かつ再現性の高い臨床診断が行われているが, この検査には専門的な技術や知識を必要とし, また長時間を要することからリアルタイム診断に制限がある。そこで, PCR 検査に代わる SARS-CoV-2 の安全・迅速かつ安価で高感度な検出システムの開発が早急に求められている。これまで我々のグループは, プラズモニックチップ (波長オーダーの周期構造レプリカに金属薄膜を成膜したチップ) 上で生成される表面プラズモン共鳴 (SPR) 場を利用した蛍光増強法, 格子結合型表面プラズモン励起増強蛍光法 (GC-SPF) 法を用いたバイオマーカーの迅速な高感度検出に取り組んできた。本研究では, SARS-CoV-2 の Spike protein (S-protein) を測定ターゲットとし, プラズモニックチップを用いて低濃度 S-protein を検出するためのイムノアッセイ開発を行った。

ピッチ 500 nm の周期構造を持つ 2 次元ホールアレイ型のレプリカを UV ナノインプリント法で作製し, スパッタ法によって Ti/Ag/Ti/SiO₂ を成膜しプラズモニックチップとした。チップ界面の疎水化のためスピコート法でポリスチレン薄膜を形成し, その上にポリドーパミン (PDA) 薄膜を調製した。PDA 上に Protein G 層を調製し, 抗 S-protein 抗体を捕捉抗体として固定化した。界面への非特異吸着を抑制するブロッキングを行った後, 1 ng/mL 以下の濃度の SARS-CoV-2 S-protein 溶液を注入し, Alexa 647 標識抗 S-protein 抗体を検出抗体としてサンドイッチイムノアッセイを構築した。S-protein 計測では波長 633 nm のレーザーを用い, 角度走査型反射率計測で決定された SPR 角を入射角とし, 最大蛍光強度が得られる基板法線方向で蛍光強度を測定した。チップ上に形成された各層の分子密度調整を含むイムノアッセイの改良を行った結果, 濃度 100 pg/mL の S-Protein を検出することができ (Fig. 1), 開発イムノアッセイによって S-Protein を高感度に検出することができた。

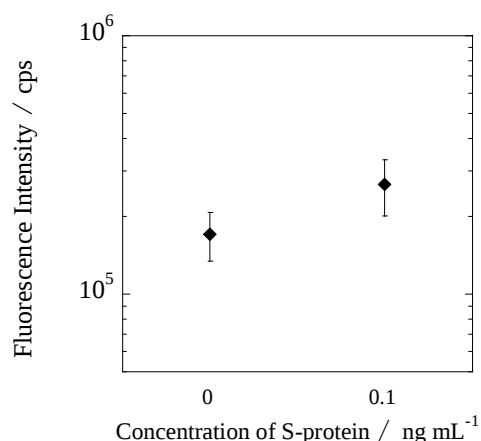


Fig.1 Fluorescence intensity measured for control solution (without S-protein) and S-protein solution at a concentration of 100 pg/mL.