

Study on NanoBiosensing based on Controlling Photons/Ions in Nanospace

篠原, 修平

<https://doi.org/10.15017/1931713>

出版情報 : 九州大学, 2017, 博士 (理学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 篠原 修平

論 文 名 : Study on NanoBiosensing based on Controlling Photons/Ions in Nanospace
(ナノ空間における光/イオン制御に基づくナノバイオセンシングに関する研究)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

近年、病院内・家庭内での医療診断・研究・食品安全などの領域においてバイオセンサーの需要が高まっており、簡便で高感度かつ定量的なバイオセンサーが求められている。例えば、イムノクロマト法を使用した妊娠検査薬などは、尿に含まれる抗原を簡便なその場測定で検出することができる。しかしながら、イムノクロマト法では十分な量の抗原を必要とするため、濃度の高い検体しか検出できず、また、呈色反応であるため定量的な検出ができないなどの課題も残されている。一方で、濃度の低い検体を検出するために、一分子/一粒子検出技術の開発が求められている。検体となる分子やウイルスを一分子または一粒子レベルで検出することができれば、超高感度バイオセンサーの実現が可能となる。

これらの問題に対して本研究では、プラズモンフルカラー現象を利用したカラリメトリックバイオセンシング法とナノポアデバイスに着目した。カラリメトリックバイオセンシング法は金属微粒子の局在プラズモン共鳴を利用することで、高感度かつ目視による色調変化から半定量的な検出が可能となる。例えば、金属微粒子の自己組織化膜を積層した際、積層数および金属種の組み合わせによって、プラズモンフルカラー現象によって局在プラズモン共鳴由来の光吸収（強度、波長）が著しく変化することが報告されている。そのため、抗原-抗体反応をはじめとした生体分子認識反応によって、金属微粒子膜上に金属微粒子を吸着させ、局在プラズモン共鳴由来の光吸収を変化させることで、簡便で高感度に検体を検出できることが期待される。さらに、呈色変化をMaxwell-Garnett理論によって評価することで、定量的な評価も可能になると考えられる。一方、ナノポアデバイスでは、ナノポア構造に検体を通過させ、その際のナノポアを流れるイオン電流の変化から検体を検出しているため、生体分子反応を必要としない。既に、特定の分子や粒子の一分子/一粒子検出には成功しているが、イオン電流変化のS/N比が低いため、全ての検体において成功しているわけではなく、実用化には至っていない。ナノポアデバイスにおけるノイズは、主にナノポアの材質が有する静電容量に起因している。そのため、静電容量の小さい材料のみでナノポアデバイスを作製することで、イオン電流の変化のS/N比を向上させることが可能となり、これまでのナノポアデバイスでは検出の難しかった検体を、一分子/一粒子レベルで検出できることが期待される。以上の点から、本学位論文では「金属微粒子膜を基盤としたカラリメトリックバイオセンシング」および「低静電容量材料を用いたナノポアデバイス」の研究を行った。

・金属微粒子膜を基盤としたカラリメトリックバイオセンシング

本研究では、ビオチンを被覆した銀微粒子膜上に、ビオチンを被覆した金微粒子を、アビジンを介して吸着（ビオチン-アビジン分子認識反応）させ（図1）、その際のプラズモンフルカラー現象に基づく呈色変化を評価した。コントロール実験として行ったビオチン被覆金基板への金微粒子吸着では、金微粒子由来の吸収がわずかにみられるだけで、目視で検出できるような色調変化はみられなかった。それに対して、銀微粒子膜基板上に金微粒子を固定化した場合は、金微粒子由来の吸収に加えて、銀微粒子膜由来の吸収波長域に大きな吸光度の変化がみられた（図2）。特に金微粒子の表面被覆率が20%を超えたところでこの効果は顕著であり、被覆率が31.5%では10倍程度の感度の上昇が確認された。これらの結果から、金属微粒子膜によるプラズモンフルカラー現象を利用することで、高感度かつ定量的（半定量的）な測定が可能なカラリメトリックバイオセンサーが可能であることが明らかになった。

・低静電容量材料を用いたナノポアデバイス

本研究では、低静電容量のPDMS材料を用いて、軸対称構造を有する縦型のポアデバイスを作製し、デバイスの評価を行った。FIBによってPDMS薄膜上にポア構造（厚さ10 μ m、直径3.5 μ m）を作製することで、縦型の軸対称構造ポアデバイスの作製に成功した。縦型PDMSナノポアデバイスのノイズは、ベース電流において1.86 pAという非常に低いノイズレベルを達成し（図3）、この結果はこれまで報告されている窒化シリコンナノポアと比べ、約1/70まで減少することに成功した。また、このナノポアデバイスによって直径1 μ mのポリスチレン粒子を検出したところ、イオン電流強度のヒストグラムは55 pA付近に分布中心を示した。これまでの先行研究では、100 pA以下のブロッキング電流計測に成功した例はなく、本研究が世界で初めてである。また、これらの結果はseries resistanceモデルによる計算とも良い一致を示した。これらの結果から、軸対称構造PDMSポアデバイスを用いることで、これまでS/N比の観点から検出が難しかった、一分子や一粒子の計測が可能になることが示唆された。

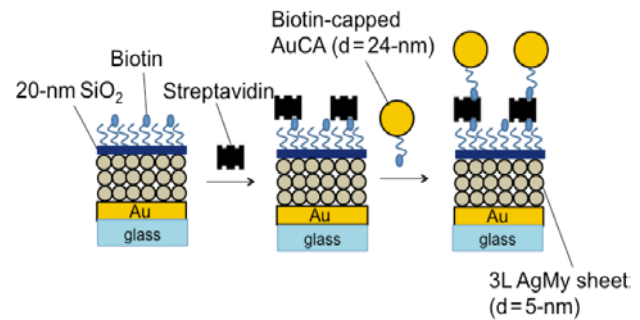


図1 プラズモンフルカラーバイオセンサーへの金微粒子の吸着

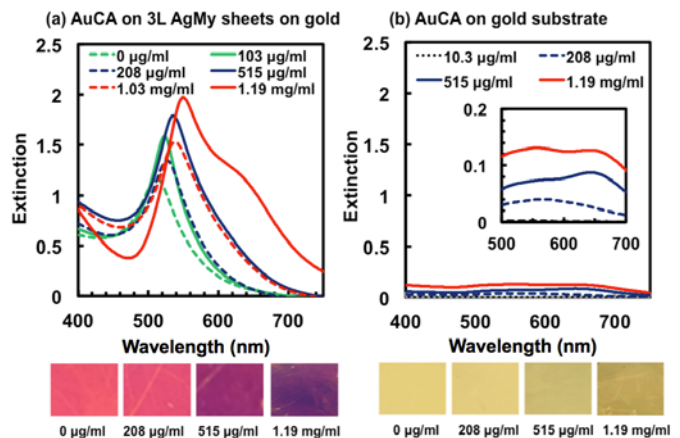


図2 プラズモンフルカラーバイオセンサー基板 (a) とビオチン被覆金基板 (b) の金微粒子吸着による反射消光スペクトルと呈色の変化

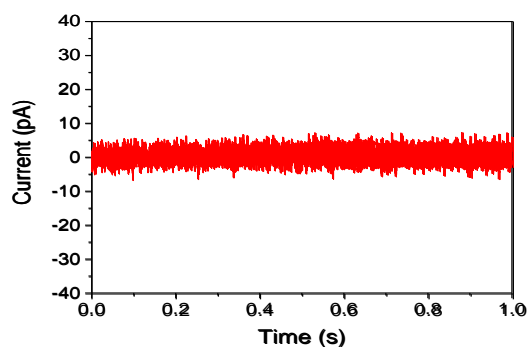


図3 縦型PDMSナノポアデバイスのベースライン