

「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」
平成 17 年度採択研究代表者

青山 茂

オムロン株式会社グループ戦略室経営戦略部・参事

ハイブリッド局在SPRを用いた生体分子の環境応答性計測

1. 研究実施の概要

我々は、小型・高感度なバイオセンサーの実現を目指している。しかし、この二つの特性はトレードオフの関係にある。本年度は、これらの特性を切り分け、別々に技術検証を行った。それぞれの成果について報告する。一つは、除振台上に構築した光学評価系を用いて、弊社独自の構造による局在表面プラズモンセンサで、癌腫瘍マーカー(AFP; α -fetoprotein)のカットオフ値の検出に成功した。もう一つは、従来の装置より大幅に小型な、デスクトップサイズの局在表面プラズモンセンサ装置の立ち上げを行った。

2. 研究実施内容

本年度は、上述のように、主に2つの取り組みを行っている。i)局在表面プラズモンセンサの高感度化、ii)センサの小型化。以下にそれぞれの詳細を記述する。

i)局在表面プラズモン(LSPR)センサの高感度化

前年度は、濃度が高く、通常の生体分子検出実験で使用される、モデルタンパク質の検出(BSA; Bovine Serum Albumin、100ug/ml)に成功した。しかし、通常バイオセンサーとして機能するためには、低濃度のターゲットを精度良く検出しなければならない。また、ターゲットは BSA だけでなく様々な種類のもが存在する。そこで我々は、癌の腫瘍マーカーである α -fetoprotein (AFP) をタ

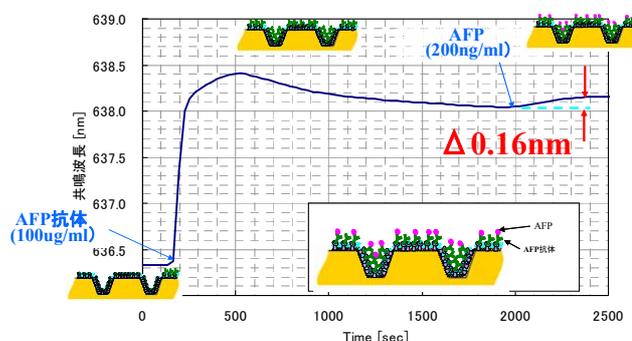


図1. ターゲット結合前後時の共鳴波長センサーダイアグラム

ターゲットとして用い、肝臓癌のカットオフ値である AFP 200ng/ml を検出目標として検証を行った。その結果を、図1に示す。ここから明らかのように、AFP を投入した際に 0.16nm のシグナル変化量が見られた。検出限界濃度は前年度の 100ug/ml から 200ng/ml に大幅に改善することができた。これは、ナノ構造の最適設計による改良と、固定化膜の改良による非特異吸着の低減などによる。作製した基板を参考までに、図2に示す。

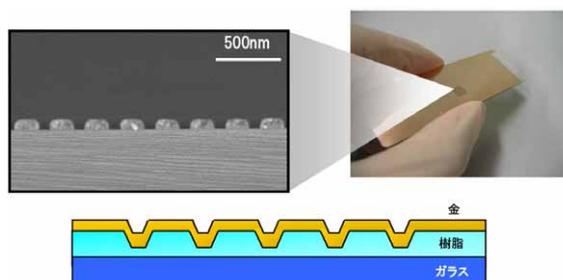


図2. 局在SPRセンサー基板

次に、従来装置(B社製SPR装置)の感度(ここでの感度は S/N 比を同義とする)との比較を行う。比較の方法として、次の二つの検証を行った。一つは、ターゲット(ここでは、AFP を使用)のみが入っている溶液を供給し、その強度(シグナル値)を読み取る。二つめは、ターゲットが入ってなく、不純物が入っている溶液(FBS; Fetal Bovine Serum, 牛胎児血清)を供給し、その強度(ノイズ値)を読み取る。これらの実験から得られる強度で S/N 比算出することができ、両者を比較することができる。それぞれの実験結果を図3と図4に示す。

ここで、従来装置と我々の装置ではシグナル強度の単位が異なるため、ターゲットを捕まえるための抗体(anti-AFP 抗体)を基板に固定化した時のシグナル値でそれぞれの強度を規格化した。結果として、従来装置よりも10倍の S/N 比を得ることができた。

今後の検討項目として、まず固定膜の安定性上昇を行う。図1で見られるように、AFP 抗体を投入後シグナル値が一旦上がり、時間の経過とともにシグナル値が下がっている。これは、固定化膜表層のプロテイン A と AFP 抗体の結合力が弱く、時間とともに AFP 抗体が剥がれていることに起因する。来年度は、固定化膜のさらなる改良を行う予定である。

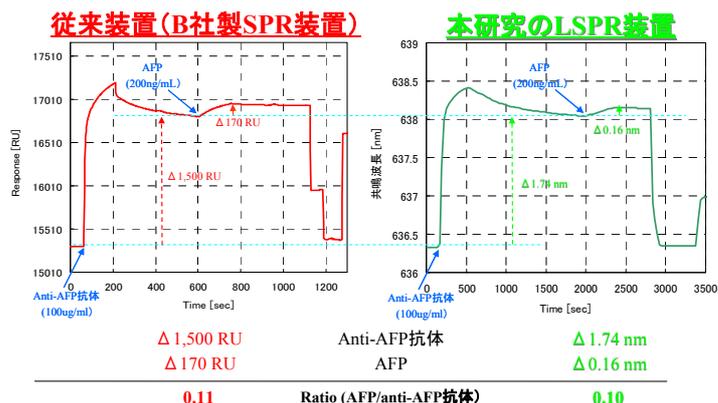


図3. AFP溶液を供給したときの、従来装置と本LSPR装置の信号強度の比較

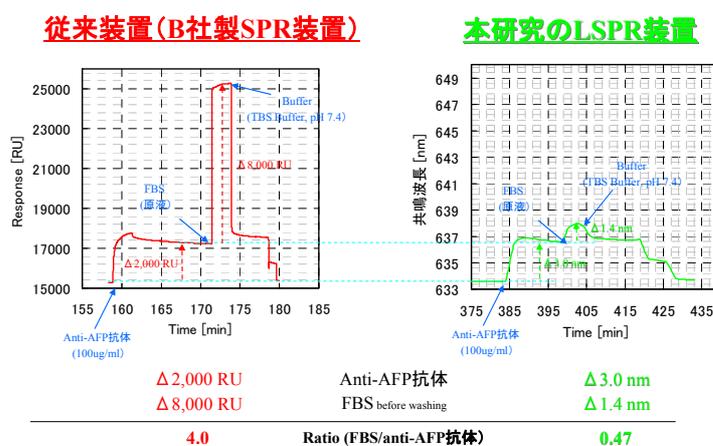


図4. FBS溶液を供給したときの、従来装置と本LSPR装置の信号強度の比較



図5. デスクトップサイズのLSPR装置

また、反応効率化により検出限界濃度のさらなる向上も行い、目標として1ng/mlの検出にチャレンジする。さらに、AFP 以外の病気の因子も検出できるマルチ測定可能なセンシング装置の実現も目指す。

ii) センサの小型化

本研究の最終目標としては、ポータブルサイズのセンサ装置の作製を目指している。そこで、本年度は、原理モデルとしてデスクトップサイズのセンサ装置の作製を行った。作製

したセンサ装置を図5に示す。サイズは 250×250×150mm であり、従来装置(B 社製)の 580×460×310mm に比べて、大幅な小型化に成功した。来年度は、この装置を用いて、除振台で検出できた AFP200ng/ml の検出を試みる。また、ユーザビリティの観点での課題出しを行い、最終目標のポータブルサイズのセンサ装置作製に向けてフィードバックを行う。

来年度は、図6に示すように、本研究の主目標である、生体分子と環境変化の同時センシングを実現することができるハイブリッド SPR センサの実証を行う。

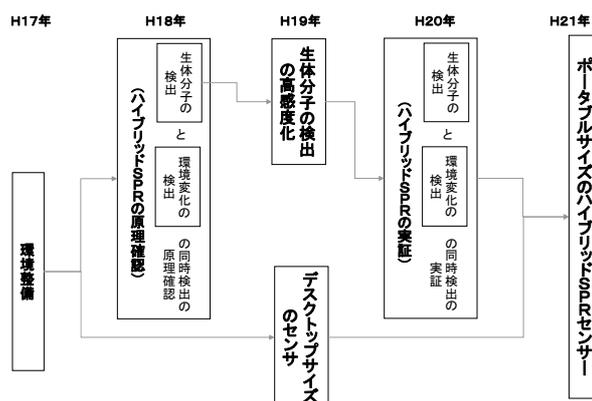


図6. マイルストーン

3. 研究実施体制

(1) 「オムロン」グループ

① 研究分担グループ長: 青山 茂 (オムロン(株)、参事)

② 研究項目

- ・ ナノ構造体によるエバネセント場をコントロールすることで従来に比べて高感度なバイオセンサを実現し、それによって低分子量もしくは低アフィニティーの生体分子間相互作用の検出を行う。また、センサの小型化も検討し、汎用性の高いバイオセンサを実現する。

4. 研究成果の発表等

(1) 特許出願

平成 19 年度 国内特許出願件数 0 件: (CREST 研究期間累積件数: 2 件)