



室蘭工業大学

学術資源アーカイブ

Muroran Institute of Technology Academic Resources Archive



## 差動式パームサイズ表面プラズモン共鳴計測装置の 開発

メタデータ	言語: jpn 出版者: 室蘭工業大学SVBL 公開日: 2008-02-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 江口, 哲也, 金木, 則明, 島田, 浩次 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10258/364">http://hdl.handle.net/10258/364</a>

## 差動式パームサイズ表面プラズモン共鳴計測装置の開発

江口 哲也（非常勤講師）・金木 則明（助教授）・島田 浩次（助手）

### 1. はじめに

近年、生化学の分野でタンパク質などの相互作用をリアルタイムに評価する装置として表面プラズモン共鳴（SPR）装置が開発され、注目を浴びている。この装置は既に装置化・市販化されているが、これらはあくまでも研究用の高価な卓上大型器であり、ポータブルでオンサイトでの計測には適していない。本研究ではオンサイト計測するため、測定方式の化学センサ化と装置の小型化及び差動化を目的として、LED (770 nm)、ミラー、2048 pixel リニア CCD を用いて、プリズム上に線焦点を結像させることによって、線焦点上の 2 点で生じる SPR を分割ミラーで 2 分・差動化することによって特徴を持つ一光源一受光子方式による安価な差動式パームサイズ SPR 計測装置 (160×100×55 mm) を開発した。

そこで、この SPR 計測装置の基本性能を評価するために、抗体固定による Human IgG 検出の検討をすることでこの装置の基礎実験を行った。

### 2. 実験方法

#### 2. 1 光学系

一般的に SPR 装置の光学系は、エバネッセント波を利用してプラズモンを励起する Kretschman 配置<sup>2)</sup>と呼ばれる光学系が用いられる (図 1)。

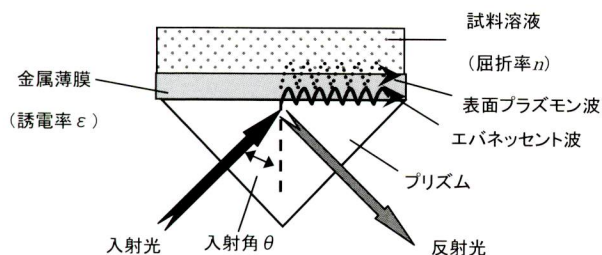


図 1 Kretschman 配置

今回用いた差動式パームサイズ SPR 計測装置の光学系も基本的には Kretschman 配置を用い、以下のような光学配置を差動 SPR 光学系とした (図 2、3)。

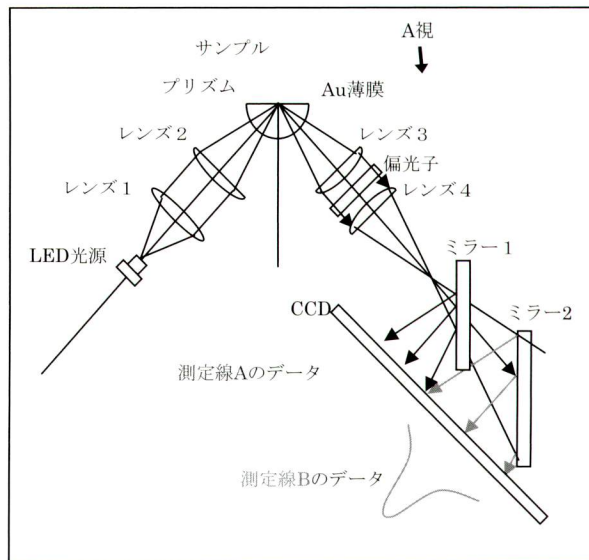


図 2 側面よりみた光学配置 (差動 SPR 光学系)

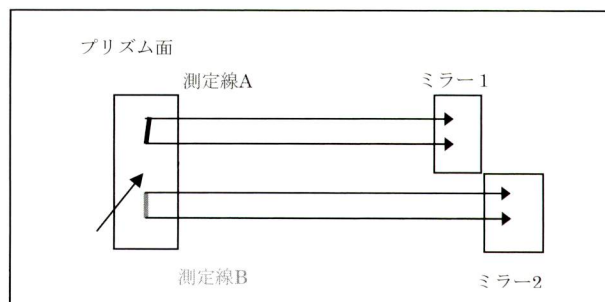


図 3 上面からみた光学配置 (図 2 中の A 視)

#### 2. 2 自己組織化単分子膜 (SAMs) 形成と Human IgG 抗体の固定化

SAMs (Self-Assembled Monolayers) の作製方法は、特殊な装置を必要としない。チオール分子の溶液中 (例えば、 $\mu \sim \text{mM}$  濃度のエタノール溶液など) に十分洗浄した金基板を一定時間浸漬するだけで容易に単分子層を構築できる。特にアルカンチオールは金と反応して Au-S 結合を形成するとともに、アルキル鎖同士の相互作用によって配向性の高い単分子層が形成されることが知られている。また、カルボキシル基などの機能性

官能基を持つことで、様々なペプチドや抗体、その他の分子認識サイトを導入することができる (図4)。

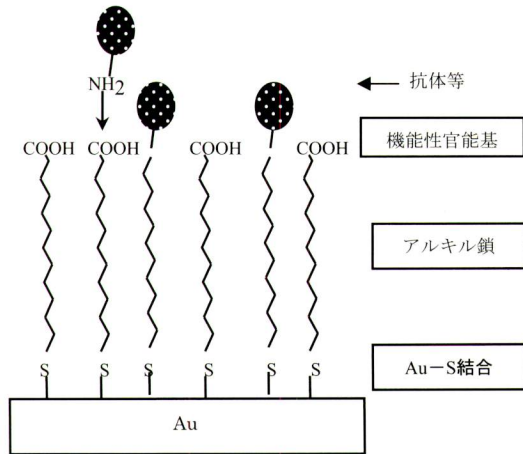


図4 カルボキシル基を末端に持つアルカンチオール単分子膜 (Self-Assembled Monolayers : SAMs) の模式図

○Human IgG 抗体の固定化法<sup>3)</sup>

- ① Piranha 溶液に金薄膜を浸漬後、純水で洗浄し、風乾する。
- ② 使用するチオール化合物のエタノール溶液に金薄膜を浸漬後、エタノール、純水で洗浄し、風乾する。この操作によって金表面にチオールが吸着される。
- ③ チオールを活性化するために、チオール活性化溶液に浸漬後、純水で洗浄する。
- ④ 抗体を固定化するため、抗体をリン酸塩 pH 標準液に溶解した溶液にチオール活性化後の金薄膜を浸漬する。

2. 2 測定

反射光の強度低下がおこる共鳴角度を測定することで金属表面の媒質の屈折率をリアルタイムに計測できる (図5)。

今回の実験では差動式 SPR 装置を使用しているため、同一サンプルチップ上の2点の測定位置にサンプル1点、サンプルと同じ組成で分析対象を含まないリファレンスを1点用意している。これら2点を同じに測定することにより、SPR シグナルの反応前ゼロ点を常時測定し、サンプル測定による SPR シグナルとの差を求め、分析対象との反応後の SPR シグナルをリアルタイムに

測定することができる。

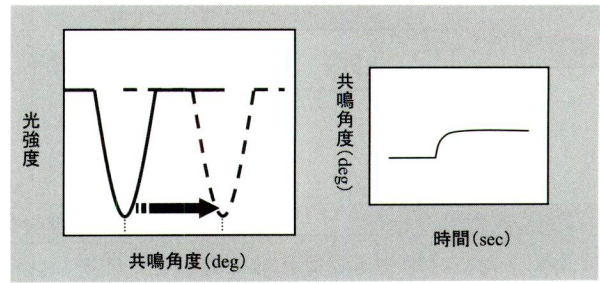


図5 SPR の計測

3. 結果と考察

Human IgG 抗体を固定化した金薄膜により、標準タンパク質として Human IgG を用いて濃度に対する共鳴角の測定を行った。その結果が図6である。

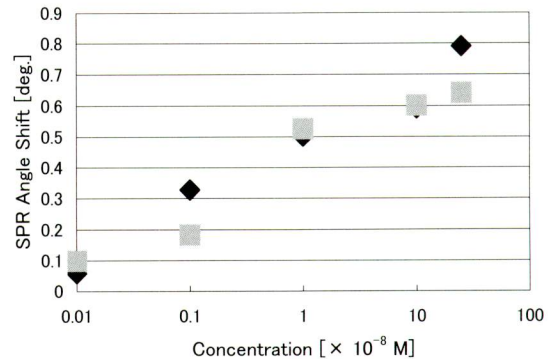


図6 Human IgG の濃度変化による Angle Shift

この図より、だいたい  $10^{-10}$  M まで定量性が見られることが示唆された。しかし、携帯型として環境汚染物質などの化学物質をオンサイト測定する装置として用いるにはさらに高感度にする必要がある。今回用いた Human IgG の分子量は約 150000 であり、環境汚染物質の分子量はこれより遥かに小さく、また、フィールドにおける濃度も低い。このため、さらに低濃度についても検討していき、この装置の基本性能を評価する必要がある。

4. 参考文献

- 1) 笹井 献一: 蛋白質 核酸 酵素, **37**, 2977-2984(1992).
- 2) 中田 聖士ら: 電子学会論文誌 E, **119-E**, 581-586(1999).
- 3) 奥谷 冴子: 表面プラズモンセンサーの開発, 八戸工業高等専門学校物質工学科, 卒業論文(2001年度).