

総説

J. Jpn. Soc. Colour Mater., 88 [6], 181-186 (2015)

一小特集 表面を利用したセンサー技術—

蛍光増強効果をもつ薄膜干渉基板のバイオセンサーへの応用

秋元卓央^{*,†}・安田 充^{*,**}

*東京工科大学応用生物学部 東京都八王子市片倉町1404-1 (〒192-0982)

**現所属：関西学院大学大学院理工学研究科 兵庫県三田市学園2-1 (〒669-1337)

† Corresponding Author, E-mail: akimoto@stf.teu.ac.jp

(2015年2月27日受付, 2015年4月4日受理)

要 旨

薄膜干渉基板は、ガラス基板上に金属と透明な誘電体薄膜を積層した基板である。この基板上に蛍光分子を塗布し蛍光を観察すると、最適な誘電体の膜厚では、通常のガラス基板と比較し蛍光を数十倍明るく観察できる。この蛍光増強はおもに誘電体層内での励起光と蛍光それぞれの光学干渉によるものと考えられている。本稿では、薄膜干渉基板に励起・蛍光波長の異なる四種類の蛍光分子を滴下したときの蛍光の強さと誘電体の膜厚の関係等について解説するとともに、薄膜干渉基板をバイオセンサーとしてタンパク質やDNAの検出へ応用した場合の結果について述べる。

キーワード：蛍光, 増強, バイオセンサー

1. 諸 論

バイオセンサーは酵素や抗体, DNA, 微生物など生体由来の物質や生体そのものを利用して、環境中や生体中に含まれる物質を迅速かつ特異的に検出する技術である。なかでも、タンパク質やDNAを特異的かつ高感度に検出するバイオセンサーの開発は古くから活発に試みられており、近年では、一種類のタンパク質やDNAを検出することよりも、多種類のタンパク質やDNAを同時に検出する多項目同時検出が可能なバイオセンサーの開発が主流となっている。

一度に多種類のタンパク質やDNAを検出する方法として、ガラス基板などに抗体や一本鎖のDNA (Probe DNA) を固定化し、測定対象とするタンパク質やDNA (Target DNA) を特異的に検出する方法が一般的に用いられる (Fig. 1 (a), (b))。この場合、複数種類の抗体や配列の異なるProbe DNAを基板上に固定化することで、一枚のガラス基板上で多種類のタンバ

ク質やDNAを同時に検出できる。この方法では、抗体やTarget DNAを蛍光分子で標識することが多く、蛍光の強度から目的のタンパク質やDNAの濃度を定量的に評価することができる。

近年、このような蛍光標識を用いてタンパク質やDNAを高感度に検出することを目的とし、抗体やProbe DNAを固定化するための基板に特徴的な構造を与える試みがなされている。さまざまな構造が報告されているが、代表的な構造をFig. 1 (c) ~ (e) に模式的に示す。

Fig. 1 (c) はAuナノ粒子に代表される直径数十ナノメートルの金属微粒子をガラス基板などに固定化し、その表面を膜厚10 nm程度のSiO₂などの誘電体で被覆した構造である¹⁻³⁾。このような構造に特定の波長の光を照射すると、金属微粒子表面に局在プラズモンを誘起することができる。局在プラズモンは金属微粒子内の自由電子の振動により作られる近接場光であり、局在プラズモンによって金属微粒子近傍の電場が増強される。このため、蛍光分子を金属微粒子に接近させると、局在プラズモンの増強電場により蛍光分子は強い蛍光を発するようになる。このときの蛍光が増強される程度は、通常のガラス基板と比較し、数十倍程度である¹⁻³⁾。金属微粒子の材質としては、取り扱いの容易さからAuが使用されることが多いが、Agの使用も多い⁴⁻⁶⁾。Agナノ粒子を用いた場合、蛍光標識抗体を用いたタンパク質の検出では通常のガラス基板に比べ、50倍程度の感度の向上が⁵⁾、また蛍光標識DNAの検出では10倍程度の感度向上が報告されている⁶⁾。近年では球形の微粒子のみならず、長細い楕円形のような形状⁷⁾ や銀で被覆されたAuナノ粒子構造⁸⁾ での蛍光増強も報告されている。

Fig. 1 (d) は基板の表面積を増大させることを目的とし、表面に規則的な凹構造をもたせた基板である。一般に、基板表面に固定化する抗体やProbe DNAの密度を上げると検出感度が向上することが知られている。このため、アルミニウムの陽極酸



〔氏名〕 あきもと たくお
〔現職〕 東京工科大学応用生物学部 准教授
〔趣味〕 釣り, 写真撮影
〔経歴〕 2000年学位取得, 博士 (工学) 東京大学。2000~2002年東京大学先端科学技術研究センター, 研究員。2002~2003年産業技術総合研究所, 研究員。2003年東京工科大学バイオニクス学部, 講師。2010年より現職, 現在に至る。



〔氏名〕 やすだ みつる
〔現職〕 関西学院大学大学院理工学研究科 博士研究員
〔趣味〕 釣り, ジョギング
〔経歴〕 2013年東京工科大学大学院バイオ・情報メディア研究科バイオニクス専攻博士課程修了, 博士 (工学)。2013~2014年東京工科大学, リサーチアソシエイト。2014年より現職, 現在に至る。