

利用課題番号 : F-13-NM-0041
利用形態 : 技術代行
利用課題名 (日本語) : リソグラフィ技術によるくし形バイオセンサ電極の開発
Program Title (English) : Development of micro-interdigitated electrode for biosensor applications
利用者名 (日本語) : 土倉 亮平、大貫 等
Username (English) : Ryohei Dogura, Hitoshi Ohnuki
所属名 (日本語) : 東京海洋大学 海洋工学部海洋電子機械工学科
Affiliation (English) : Tokyo University of Marine Science and Technology

1. 概要 (Summary) :

本研究では簡易・高性能なバイオセンサを構築するため、非標識測定が可能な電気化学インピーダンス (EIS) 法に着目し、研究を行った。EIS 法とは測定対象に様々な周波数の交流電圧を印加し、応答電流を解析することで、測定対象の電気的なパラメータを求める手法である。

我々は EIS バイオセンサの測定感度を向上させるため、くし形電極、自己組織化単分子膜 (SAM) といったマイクロスケールの微細加工技術とナノレベルの分子膜作成技術をセンサ作製に用いた。くし形電極はリソグラフィ技術を用いて微細なバンド (帯状) 電極を密に配列したものである。正極と負極が密接した電気化学測定が可能になるため、高感度特性や低ノイズ特性が得られ、チップ化や小型化が容易になる利点がある。本研究では、アビジン-ビオチン反応をアフィニティ反応のモデルケースとして取り上げ、センサの作製を行った。この反応は高い結合性と安定性が知られており、アフィニティセンサの開発プラットフォームに良く用いられる反応である。ここでは特に、表面吸着分子の生み出す静電的な障壁が EIS スペクトルに及ぼす効果を調べた。

2. 実験 (Experimental) :

【利用した主な装置】

1) 全自動スパッタ装置, 2) レーザー露光装置

【実験方法】

石英ガラス基板の上にスパッタリングで Ti 40 nm, Au 200 nm の膜厚で成膜し、金表面にレーザー露光装置を用いて楕型のパターンを形成した。この電極表面上に 3-mercaptopropionic-acid (MPA) SAM を形成し、MPA の COOH 末端を EDC/NHS 反応により活性化してアビジン溶液 (0.5 mg/mL) に浸漬することで、アビジン分子を楕形電極上に化学結合させた。

3. 結果と考察 (Results and Discussion) :

EIS 測定はレドックス種として働くフェリシアン化カリウムとフェロシアン化カリウムを 1mM ずつ溶かした PBS 溶液中 (pH = 7.0) で行った。印加電圧は 0 ± 10 mV、周波数は 100 kHz から 1 Hz であった。これまでの研究より、試料をビオチン溶液に浸漬すると、電極表面の電荷移動抵抗 R_{ct} が増加し、EIS スペクトルが変化することが明らかにされている。しかし、EIS から得られる R_{ct} 増加の原因が物理的な障壁によるのか静電的な障壁によるのか判断できなかった。本研究では測定溶液の pH をコントロールすることでビオチン分子の負電荷量を制御し、 R_{ct} の変化量を調べた (図)。図に示した結果から、 R_{ct} の変化量は pH に大きく依存していることが分かる。すなわちビオチンが最も負に帯電する pH8 で変化が大きく、ほとんど帯電しない pH6 では変化が小さい。これより、 R_{ct} の変化はレドックス種と吸着分子の間に働く静電的な相互作用によってもたらされると結論できた。

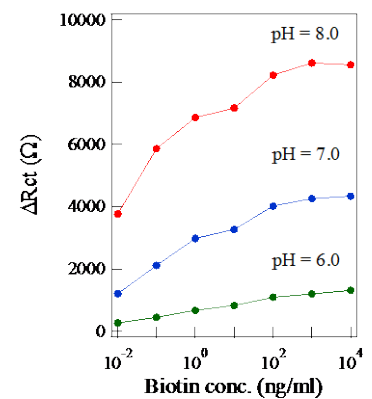


図 ΔR_{ct} の pH 依存性

4. その他・特記事項 (Others) :

なし

5. 論文・学会発表 (Publication/Presentation) :

Influence of Electrostatic Interaction on Electrochemical Impedance Spectrum of Biotin/Avidin System, XVII euro ANALYSIS, 26 Aug. 2013.

6. 関連特許 (Patent) :

なし