

課題番号 :N-16-NM-0081
利用形態 :技術代行
利用課題名(日本語) :マイクロギャップ平行平板電極による免疫センサの開発
Program Title (English) :Development of impedance biosensor with a micro-gap parallel plate electrodes system
利用者名(日本語) :大貫 等
Username (English) :H. Ohnuki
所属名(日本語) :東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科
Affiliation (English) :Tokyo University of Marine Science and Technology

1. 概要(Summary)

電極/溶液界面での吸着現象をインピーダンス変化で捉える電気化学インピーダンス(EIS)法は、反応生成物を生じない抗原抗体反応などを非標識で測定可能な手法として、多くの注目を集めてきた。

本研究では EIS 法に対する高感度化を実現するため、電極間隔の狭い並行平板電極を作製、使用した。これは狭い電極間でレドックスプローブの酸化還元サイクルが高速化されることで、信号の高い変換効率を得られるためである。また、この並行平板電極は電極表面が平滑で安定しているため、計測において高い再現性と安定性を有す。また形状が単純であるため楕円などの微細加工を要する電極と比べて個体差が少なく、扱いも容易であるなどの利点が挙げられる。

今回、金電極表面に自己組織化膜(SAM)を用いて検出対象であるヒト免疫グロブリン G(IgG)の受容体を固定化し IgG バイオセンサとした。これを用い、EIS 法で測定を行い IgG の検量線を作成した。

2. 実験(Experimental)

テンパックス基板上に直径 3 mm の円形電極の周囲を絶縁性の厚さ 40 μm カプトンテープで囲み、これを同様の円形電極パターン基板 5 mm と向かい合わせに張り合わせることで 40 μm のギャップを持つ平行平板構造とした。本基板の作製を NIMS 微細加工 PF の技術代行により依頼した。

【利用した主な装置】(NIMS 微細加工 PF)

全自動スパッタ装置、高速マスクレス露光装置、ダイシングソー、3次元測定レーザー顕微鏡

【実験方法】(東京海洋大学)

表面洗浄を行った金電極表面に SAM を成膜させ、その末端に IgG 受容体である Protein G'を固定化し IgG

バイオセンサとした。IgG を緩衝溶液で濃度調整(0.01~10000 ng/ml、10 倍ずつ希釈)し、センサを浸漬した。 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 5 mM と KCl 100 mM を含む水溶液中で EIS 測定を行った。

3. 結果と考察 (Results and Discussion)

Fig. 1 に各 IgG 濃度ごとのナイキストプロットを示す。浸漬した IgG 濃度を上昇させるにつれてプロットの半円の直径 (R_{ct} : 電荷移動抵抗)が増大している。これは電極表面に IgG 分子が吸着し、電極間の電子授受の阻害をしているためと考える。Fig. 2 に IgG 濃度ごとの R_{ct} 変化割合を示す。横軸に対数をとると IgG の検量線は直線で近似できる。したがって本試料は 0.01-1000 ng/ml の濃度範囲で IgG センサとして使用可能である。また 1000 ng/ml から検量線が横ばいになっているが、これは電極表面の IgG 受容体の反応サイトが飽和したためである。

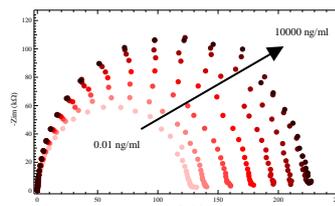


Fig. 1 Nyquist plots

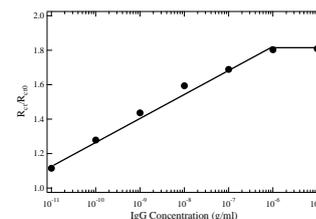


Fig. 2 Calibration curves

4. その他・特記事項(Others)

なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

(1) 日下裕介, 大貫等 他、第 77 回応用物理学会秋季学術講演会、平成 28 年 9 月 15 日発表

(2) 日下裕介, 大貫等 他、12th International Conference on Nano-Molecular Electronics、平成 28 年 12 月 15 日

6. 関連特許(Patent)

電極構造に関し、特許出願済み