

課題番号 : F-17-NM-0101
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 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所
Affiliation (English) : Tokyo University of Marine Science and Technology
キーワード/Keyword : バイオセンサ, 免疫センサ, インピーダンス分光法, リソグラフィ・露光・描画装置

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、電極間隔の狭い平行平板電極を作成、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が得られるためである。また、この平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形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 の円形電極の周囲と円周エッジ部を絶縁性の厚さ 1 μm の SiO_2 で覆い、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 2 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】

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 を緩衝溶液を用いて濃度調整 (0.0001~10000 ng/ml, 10 倍ずつ希釈) し、センサを浸漬した。[Fe(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)

プロットのグラデーションが IgG の濃度変移に対応する。またナイキストプロットにおいて半円プロファイルの直径が R_{ct} の大きさに対応する。このグラフにより、IgG 濃度が高い溶液に浸漬するごとに半円の大きさが增大しているのがわかる。これは電極上の IgG レセプターである Protein G' に IgG が吸着する事により、電極上の電荷移動を阻害するためである。また、反応は 100 ng/mL 付近で止まった。これは IgG レセプターの反応サイトがすべて IgG と反応し、これ以上 IgG が吸着するサイトがなくなった為であると考えられる。

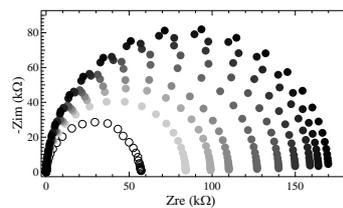


Fig. 1 Nyquist plots

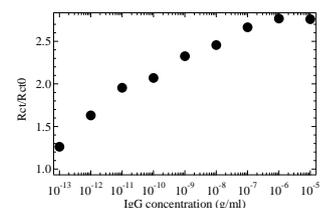


Fig.2 Calibration curve

楕型電極との比較では、平行平板型電極によるセンサは高い安定性と再現性を有することが改めて明らかになった。これは測定結果が変動しやすいインピーダンス計測において大きな利点である。

4. その他・特記事項(Others)

平行平板電極は吉田美沙氏の工夫により成功した。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) 日下裕介, 大貫等 他, 第78回応用物理学会秋季学術講演会 2017年9月6日
- (2) Y. Kusaka, H. Ohnuki etc, 12th Biosensor & Bioanalytical Microtechniques in Environmental, Food & Clinical analysis, 26 Sept., 2017

6. 関連特許(Patent)

電極構造に関し、特許出願済み。