

N-22

プローブ固定化磁性ビーズと機能化ナノ粒子を用いたバイオマーカーの電気化学的検出

Functionalized nanoparticle-based biosensor for electrochemical multiplex detection.

○大橋幹矢¹, 合田達郎², 松元亮², 星徹³, 澤口孝志³, 宮原裕二²

○Mikiya Ohashi¹, Tatsuro Goda², Akira Matsumoto², Hoshi Toru³, Takashi Sawaguchi³, Yuji Miyahara²

Abstract: An electrical biosensor platform offer great potential in the fields of diagnostics, therapy, and drug delivery. In this research, we aimed the detection of target biomolecules using the electrochemical technique namely differential pulse voltammetry. For this electrochemical study, we employed functionalized silver and/or molybdenum nanoparticles that are composed of probe-immobilized magnetic beads and target biomolecules by sandwich assay. The oxidation peak of silver and molybdenum were successfully obtained at 0.09 and 0.05 V, respectively. Then, we tried the detection of a target biomolecules using this system. Targeting nanoparticles plays a key role in developing novel biosensors for electrochemical multiplex detection in the future.

1. 緒言

ある特定の核酸やタンパク質は、様々な疾病の発病や抑制機構に関与していることが知られており、バイオマーカーの簡便な検出法の確立は、日常的な指標または予後診断の指標として、個人に応じた医療を提供するテーラーメイド医療への応用が期待されている。現在のバイオマーカーを定量する代表的な方法としては、定量PCRを用いた核酸検出法が挙げられる。しかし、多段階の煩雑な操作を要し、内在因子に起因する検出エラーが生じる、蛍光光学系の検出デバイスを必要とするといった課題がある。さらに、臨床においては複数のターゲットを同時に検出する簡易型デバイスの開発が求められている。

本研究では、プローブ分子を固定化した磁性ビーズを用いて、分子認識イベントにより形成したターゲット-プローブ固定化磁性ビーズの複合体を、機能化ナノ粒子または量子ドットでサンドイッチ法によりラベル化し、電気的な計測を行うことでバイオマーカーの検出および定量化することを目的としている。このデバイスを開発する利点として、まず生理条件下(150 mM, pH 7.4)で動作する機能化ナノ粒子を利用するために酸や塩基を用いないグリーンケミストリであることが挙げられる。次に簡易的に多種類のサンプルの同定と定量を行う方法の確立を目指すため、多検体同時測定を可能とするということも挙げられる。以上のことより、多項目バイオマーカーの電気化学的検出を目指す。

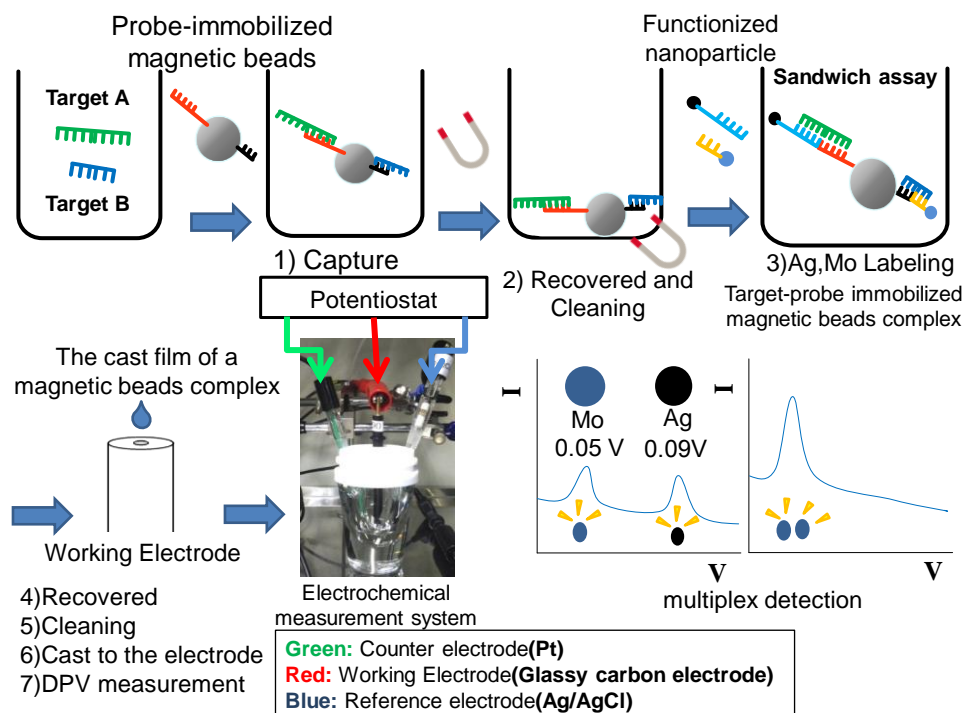


Fig.1 Schematic diagram of the electrochemical detection

1 : 日大理工・学部・応化 CST.Nihon-U. 2 : 東医歯大・生材研・宮原裕二研究室 TMDU 3 : 日大理工・教員・応化 CST.Nihon-U.

2. 実験方法

Fig. 1 に示したように, Differential Pulse Voltmmetry (DPV) 測定によるターゲットの定量を目指している. グラフシャーカーボン電極上にそれぞれ一定量のナノ粒子を含むキャストフィルムを作成し, まずは機能化ナノ粒子として用いる Ag, Mo ナノ粒子の定量性について確認した. 作用電極には GC 電極(内径 3.0 mm), 対電極には白金電極, 参照電極には銀/塩化銀電極, を用いた. 測定電位は-0.4 V から+0.6 V, パルス振幅は 50 mV, 電位増加分は 10 mV とした.

3. 結果と考察

機能化ナノ粒子として用いる Ag, Mo ナノ粒子の定量性を DPV により検討した結果を Fig. 2 に示す. Fig. 2 a), b) は Ag, Mo 酸化ピーク位置とその電流値を表している. Ag ナノ粒子は, 固定化量とシグナル強度間に相関関係が見られ 0.09 V にピークトップを持つことを見出した. Mo ナノ粒子は, 0.05 V に Mo 酸化ピークが生じることが知られており^[1], 同様に該当するピークが得られた. また Fig. 2 d) より, およそ 62.5 ng までの領域で定量できる可能性を示した. 一方, Mo の固定化量が多くなると 0.3 V にもシグナルが得られたがこれは MoO₂ に起因するものと示唆される.

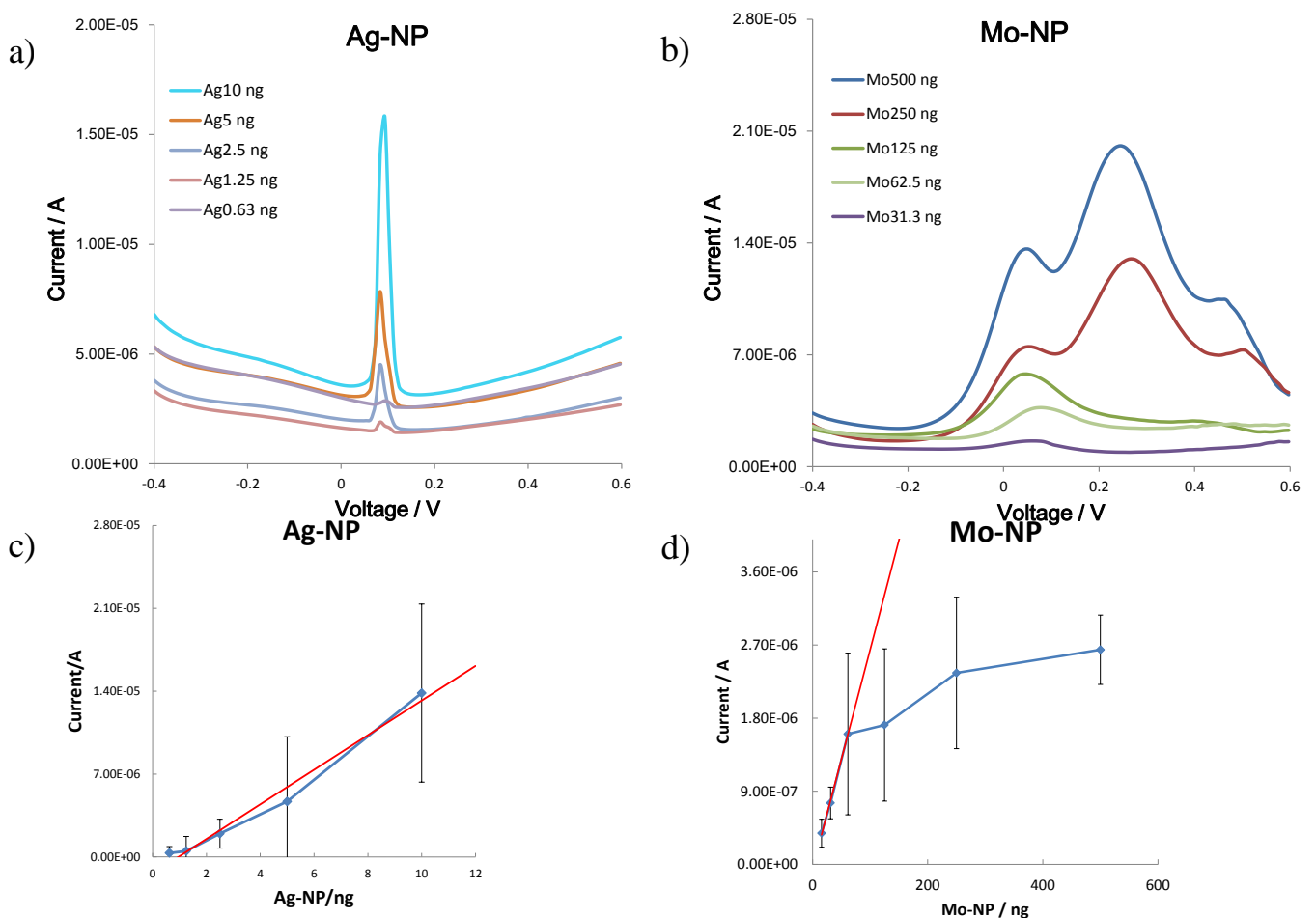


Fig.2 Ag, Mo oxidation potential signal a),b)DPV measurement data c),d) Peak current vs Ag,Mo-NP amount Ag:0.09 V, Mo:0.05 V

4. 結言

DPV を用いた Ag, Mo の酸化ピーク測定を行い, ナノ粒子量と酸化ピーク強度間に相関関係が得られ, 定量測定が可能であることを確認した. 引き続き, サンプルに BRCA1 (乳がんマーカー) を使用し, サンドイッチアッセイを用いたターゲット-プローブ固定化磁性ビーズ複合体の作成と, それに伴うターゲット検出実験を検討する.

5. 参考文献

[1] Martin Pumera, Molybdenum metallic nanoparticle detection via differential pulse voltammetry, *ELECTROCHEM COMMUN*, Vol. 13, pp 203-204 (2011).