

Layer-Parameterを利用した弾性表面波バイオセンサの応答評価

メタデータ	言語: ja 出版者: 静岡大学 公開日: 2021-12-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 叶, 浩司 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10297/00028465

(課程博士・様式7) (Doctoral qualification by coursework, Form 7)

学位論文要旨

Abstract of Doctoral Thesis

専攻： 光・ナノ物質機能 氏名： 叶 浩司

論文題目： Layer-Parameter を利用した弾性表面波バイオセンサの応答評価

論文要旨：

本論文は、弾性表面波をトランスデューサとして利用した弾性表面波バイオセンサの検出感度向上、及び、検出機能拡張を目的とした、せん断横波弾性表面波(SH-SAW)の伝搬特性の評価について述べる。これまでのバイオセンサは、検出対象の分子が受容体に捕捉される現象を、標識分子の発光や質量変化を通じて検出する手法が一般的に用いられる。弾性表面波バイオセンサでも、質量負荷効果、あるいは粘性変化による弾性表面波の伝搬特性変化を通じて検出対象物質を測定していると解釈されてきた。これは、これまでのバイオセンサの測定では検出対象の形状・寸法については評価の結果に考慮されて来なかったと言い換えることができる。本研究の対象として用いた SH-SAW の伝搬経路上に発生する表面波変位は、伝搬経路表面に局在するわけではなく、変位の一部はセンサ表面に負荷される溶媒の性質と SH-SAW の波長に応じた深さまで溶媒の内部に侵入する特性(粘性侵入)を持つ。この特性により、検出対象分子の形状・寸法が SH-SAW の伝搬特性に影響することで、検出対象の性質を評価できる可能性があると考えられた。

本論文では、弾性表面波バイオセンサの伝搬経路上に固定化した検出対象抗原(C-Reactive Protein: CRP)と特異的に反応する捕捉抗体と、信号増幅の目的で付加的に反応させられる二次抗体が、CRP 抗原を挟み込むように捕捉するサンドイッチアッセイと呼ばれる抗原抗体反応の手法を利用して SH-SAW の伝搬特性を評価した。

測定対象の分子寸法違いに対する SH-SAW の伝搬特性を評価するため、粒子直径の異なる金ナノ粒子(10, 15, 20, 30nm)を二次抗体に結合させた状態でサンドイッチアッセイを実行した。サンドイッチアッセイによって生成される捕捉抗体-CRP 抗原-金ナノ粒子結合二次抗体の複合体の寸法が、結合された金ナノ粒子直径に応じて変化する。この反応過程を SH-SAW バイオセンサで測定することで、擬似的に分子寸法の異なる検出対象物質に対する SH-SAW の伝搬特性を評価した。

また、別のアプローチとして SH-SAW の動作周波数の変更により(100, 125, 150, 250, 300, 400MHz)表面波の粘性侵入深さを変化させて、前記サンドイッチアッセイ複合体の寸法と SH-SAW 変位の関係を相対的に変化させる評価をした。分子サイズを疑似的な変更と、SH-SAW の動作周波数変更で変位の侵入深さを変化させるアプローチは、組み合わせで評

価した。

抗原抗体反応により生じる SH-SAW の音速変化と振幅変化を測定し、指標として SH-SAW の音速変化と振幅変化の比で定義する Layer-Parameter を本研究の中で独自に定義し、擬似的に変化させた分子寸法を Layer-Parameter を用いて評価した。

取得したデータの分析から、Layer-Parameter は検出対象物質の濃度に依存しないことを明らかにした。また、Layer-Parameter は、SH-SAW バイオセンサ伝搬経路上に形成された分子複合体の寸法と相関をもつことを明らかにした。この相関関係の妥当性を検証する目的で、抗原・抗体・金ナノ粒子からなる分子複合体を生体分子膜と想定した数値解析シミュレーションを実行した。シミュレーションでは、生体分子膜厚の変化に対する音速及び、振幅の変化を計算した。計算結果を用いて得られた Layer-Parameter と実験結果が一致した傾向を示し、分子寸法と Layer-Parameter の相関関係を確認した。これにより、Layer-Parameter と SH-SAW 伝搬特性を用いた新しい分子サイズ評価方法が妥当であることが確認できた。加えて、SH-SAW バイオセンサの動作周波数で変化する粘性侵入深さと、分子複合体の寸法の比率をパラメータとして Layer-Parameter を評価したところ、SH-SAW バイオセンサの動作周波数、金ナノ粒子直径に依存せず、すべての測定データが指数関数の相関関係で記述できることを見出した。

本研究は、SH-SAW バイオセンサの伝搬路上に形成された生体分子寸法を、Layer-Parameter を用いることで解析できる可能性を示した。Layer-Parameter を応用することで、従来の抗原濃度の測定と同時に検出表面に補足される生体分子の寸法を測定することで、SH-SAW バイオセンサの検出特性の改善につながると考えられる。また、本研究の結果は、粘性侵入深さと生体分子寸法の比率と Layer-Parameter の相関を用いることで未知の生体分子の大きさを推定できる可能性を示唆している。

これら成果を SH-SAW バイオセンサの主要アプリケーションである臨床現場即時検査 (POCT) デバイスの特性改善につなげられると考えられる。特に、Layer-Parameter と粘性侵入深さを応用した簡便な生体分子サイズ推定手段は、抗原濃度検出という従来の用途に加え、検出表面に補足した生体分子の分析という新たなアプリケーションを加えるものと期待する。本研究で提案した、従来検討されることの少なかった、SH-SAW の音速変化と振幅変化を同時に利用する Layer-Parameter は、抗原抗体反応を多角的に評価することができるため POCT と、その周辺の評価において有用であることを述べた。