

利用者名：応用生物学部 教授 矢野 和義



Title: Characterization of plasma polymerized acetonitrile film for fluorescence enhancement and its application to aptamer-based sandwich assay

(蛍光増強のためのアセトニトリルプラズマ重合膜の物性評価とそのアプタマーサンドイッチアッセイへの応用)

Authors: Kazuyoshi Yano, Yutaro Matsuie, Ayaka Sato, Maiko Okada, Takuo Akimoto and Iwao Sugimoto

矢野和義 (東京工科大 応用生物学部 教授)、松家祐太郎 (東京工科大 大学院生)、

佐藤彩香 (東京工科大 学部生)、岡田麻衣子 (東京工科大 応用生物学部 助教)、

秋元卓央 (東京工科大 応用生物学部 教授)、杉本岩雄 (東京工科大 コンピュータサイエンス学部 教授)

Journal: Analytical Methods 16 (2024) 5311–5320

掲載年月: 2024 年 7 月

研究概要: 緻密な有機薄膜を作製可能なプラズマ重合法を用いて、ガラス基板の金属膜上にプラズマ重合膜との積層構造を構築しました。表面の物性解析により、アセトニトリルを用いて作製したプラズマ重合膜の表面にはアミノ基が生成していることが示唆されました。また金属膜との積層構造の表面で、蛍光色素からの蛍光強度が数十～数百倍に増強されました。さらにこの積層構造を利用してアプタマーサンドイッチアッセイを行ったところ、標的物質を広い濃度範囲で定量できることが示されました。

研究背景: 臨床検査の分野において疾病指標成分を高感度に測定できることは、早期診断・早期治療の観点から大変重要です。そこで本研究では、金属膜と光干渉膜をナノメートルレベルで順次積層することで蛍光増強可能なナノ積層構造に着目しました。本研究では特にこの光干渉膜を、緻密な有機薄膜をナノメートルレベルで製膜可能なプラズマ重合法で作製することにしました。

研究成果: アセトニトリルをモノマーとしたプラズマ重合膜を様々な重合時間や電力で製膜し、それらの物性を評価したところ、製膜条件に応じて膜厚が変動し、さらに膜表面にアミノ基が形成されることがわかりました。次にこのナノ積層基板に蛍光標識 DNA を滴下したところ、蛍光色素からの蛍光強度がプラズマ重合膜のみの基板と比べて 281 倍に増強されました。さらにアセトニトリル膜表面に形成されたアミノ基を生体分子との固定化に利用することで、生体分子を強固に固定化でき、安定かつ高感度なバイオセンシングシステムが構築できるのではと考えました。そこで、血液凝固因子トロンピンを認識する DNA アプタマーを用いてトロンピンのサンドイッチアッセイを行ったところ、10–1000 nM の濃度範囲で定量できました。さらにこのナノ積層基板はプラズマ重合膜のみの基板と比べて約 200 倍の高感度化を達成することができました。

社会的・学術的なポイント: バイオセンシングにおける蛍光測定の感度を上げるために、プラズマ重合法を利用しました。この方法は数センチ四方の比較的広い領域を一括加工でき、デバイスを作製するための複雑な工程がありません。かつこのプラズマ重合膜の特性を生かし、アミノ基を介した生体分子の固定化膜と光干渉膜という 2 つの役割を付与させたことが他の研究にはない学術的なポイントとなります。このシステムは今後実際に臨床サンプルに応用することで、早期診断・早期治療に貢献することが期待されます。

用語解説:

プラズマ重合法: 有機化合物のモノマーを低温プラズマによってイオン化し、それらを三次元架橋することで緻密な有機薄膜を製膜する方法。

光干渉膜: 光が透過できる透明な膜で、上から照射しその表面で反射した光と、光干渉膜を通過しその底面で反射して膜表面に出る光の位相が一致したときに光の強度が増強される。

アプタマー: 抗体のような分子認識能を持った DNA や RNA などの一本鎖核酸。

サンドイッチアッセイ: 2 種類の抗体やアプタマーで標的分子を挟み込むように結合させることで検出する方法。