

量子結晶 SERS 基板を用いた抗原抗体反応の高感度検出

(1 関西学院大学理工、2(有)マイテック、3 産業技術総合研究所健康工学研究部門 HRI, AIST)

○荒木大知¹、長谷川裕起²、長谷川克之²、山本裕子³、伊藤民武³、北濱康孝¹、尾崎幸洋¹

High sensitive detection of antigen-antibody reaction using quantum crystal SERS substrate

(Kwansei Gakuin Univ.¹, Mytech Corporation², Health Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)³)

Daichi Araki¹, Yuuki Hasegawa², Katsuyuki Hasegawa², Yuko S.

Yamamoto³, Tamitake Itoh³, Yasutaka Kitahama¹, Yukihiro Ozaki¹

【序】表面増強ラマン散乱(Surface enhanced Raman scattering: SERS)は金属ナノ微粒子間の増強電場を用いてラマン散乱をより高感度に検出する方法である。特に近年、生体分子計測への応用が試されている。そこで本研究では、量子結晶基板を用いて抗原抗体反応前後における SERS スペクトルを測定し、その違いを観察した。量子結晶基板とは、銀錯体溶液を金属基板上に滴下して、3 分後に溶液を除去し、多数の銀ナノ微粒子凝集体をその金属合金上に形成したものである(図 1)[1]。

【実験】銀錯体溶液は、チオ硫酸ナトリウム・五水和物($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)を水に溶かし、そこに塩化銀(AgCl)を加えて溶けるまでかき混ぜ、調製した。次に、SERS 基板は銀錯体溶液と抗体(免疫グロブリン G: IgG)の混合物を合金上に滴下して作製。その後、抗原を滴下して銀錯体溶液+抗体のスペクトルと抗原を滴下した後のスペクトルの違いに注目した。

まず、抗原に修飾している色素が異なるものを用いて測定した。銀錯体溶液+IgG を金属基板上に滴下してから TRITC の色素を修飾させた抗原を滴下して 5 分後・10 分後のスペクトルを測定した。また、FITC の色素を修飾させた抗原を用いた実験も同様の手法で行った。次に、抗体を免疫グロブリン E(IgE)に変えて同様の実験を行った。

次に、アビジンとビオチンという別のタンパク質を用いて実験を行った。アビジン+銀錯体溶液によって基板を作製して、それからビオチンを滴下して同様に測定した。また、ビオチン+銀錯体溶液による基板でのアビジンの検出も行った。最後に、リムルス試薬+銀錯体溶液による基板でエンドトキシンを検出する実験を行った。ラマン検出に用いた励起波長は全て 785nm であった。

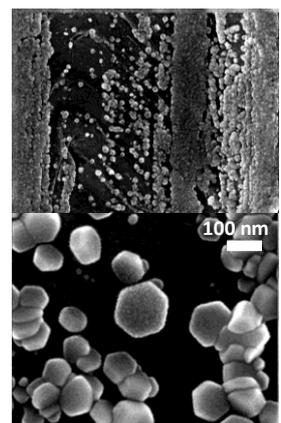


図 1 金属合金上に形成した量子結晶の SEM 画像

[結果と考察] まず、IgG と異なる色素(TRITC, FITC)が修飾した抗原を反応させたスペクトルを図2に示す。図2における青色で囲っている部分に注目すると、どちらも抗体+銀錯体溶液では現れなかったピークが色素付き抗原を滴下することで新たなピークが観測された。ここで、TRITC・FITC という修飾している色素が異なるにも関わらず、新たに観測されたピーク

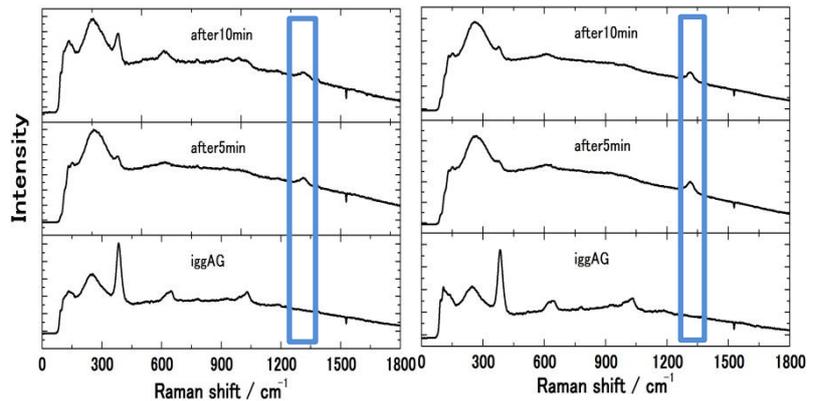


図2 IgG に TRITC 付き抗原を滴下したスペクトル(左)、FITC 付き抗原を滴下したスペクトル(右)

ク位置はどちらも $1310\text{cm}^{-1}\sim 1320\text{cm}^{-1}$ であった。次に、異なる抗体(IgE)-抗原を用いて同様の実験を行うと先の実験結果と同様に、こちらも 1310cm^{-1} 付近に新たなピークを観測することが出来た。このように抗原抗体反応に関しては、抗原に異なる色素が修飾されていたり、違う抗体を用いて実験を行っても、新たに観測されるピーク位置はどれも同じところに観測出来た。

次に、アビジン・ビオチンを反応させたときの結果を図3に示す。まず、図3のどちらにも言えることであるが、ビオチン+銀錯体溶液とアビジン+銀錯体溶液のスペクトルでは 1030cm^{-1} 付近のピークは見られなかったが(図3内1)、それぞれアビジン・ビオチンを滴下すると1のピークがシフトして、更に2という新しいピークが観測出来た(図3内2)。2は 930cm^{-1} 付近にどちらも出ていた。また、リムルス(LAL)試薬とエンドトキシンを反応させたときのゲル化する場合に出てくるピークは 900cm^{-1} であった。

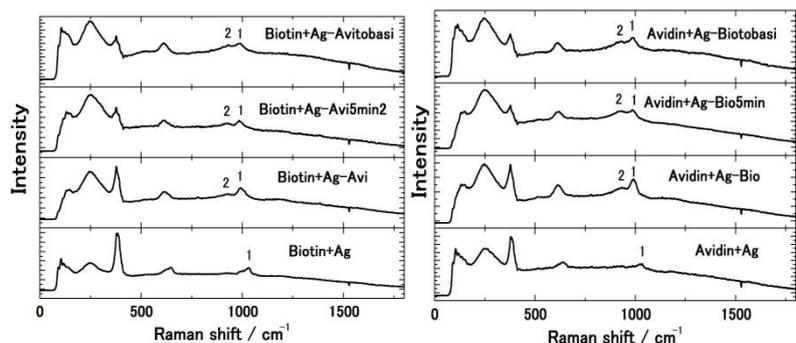


図3 ビオチン+銀錯体溶液にアビジンを滴下したスペクトル(左)、アビジン+銀錯体溶液にビオチンを滴下したスペクトル(右)

今回、抗原抗体反応・アビジンビオチン結合・エンドトキシン LAL 試薬という3つの反応を見てきたが、3つ全て異なる位置に新たなピークを観測する事が出来た。

[参考文献]

- [1] Y. S. Yamamoto, K. Hasegawa, Y. Hasegawa, N. Takahashi, Y. Kitahama, S. Fukuoka, N. Murase, Y. Baba, Y. Ozakid and T. Itoh, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, DOI: 10.1039/c3cp52564c.