

【助成 38 -15】

くさび型 SPR センサと DNA による VOC の吸着メカニズムの解明と超高感度検出

研究者 東京農工大学 工学部 准教授 清水大雅

〔研究の概要〕

表面プラズモン共鳴(SPR)センサは小型・軽量、非標識、ハイスループットといった特徴を持ち、標的とするたんぱく質を水相にて特異的高感度に検出するバイオセンサに応用されている。一方、気体分子の検出には、高い屈折率分解能が必要であること、特異的検出が難しいという問題がある。医療、農業等の観点から重要な揮発性有機化合物の検出を目的とし、くさび型 SPR センサに DNA を修飾し揮発性有機化合物の高感度検出を試みた。基板面内で膜厚が異なるくさび型金薄膜の上に 2 種類の DNA を自己組織化単分子膜(SAM)とともに修飾し、濃度数十 ppm から数百 ppb のエタノールとサリチル酸メチルのガスを検出した。DNA と SAM の組み合わせによって、エタノールとサリチル酸メチルの応答が異なることが明らかになった。これらは親水性と疎水性の違いによるものと見られる。今後、検出限界を検証し、揮発性有機化合物の高感度検出を目指す。

〔研究経過および成果〕

表面プラズモンポラリトン(SPP: Surface Plasmon Polariton)は金属表面の自由電子の集団振動と電磁波が結合した系であり、外部光による SPP の励起条件が、金属表面の屈折率変化に敏感に変化することは表面プラズモン共鳴(SPR: Surface Plasmon Resonance)センサとして、小型・軽量、非標識のバイオセンサに応用されている。様々な分野で揮発性有機化合物(VOC)の検出を実現するセンサの需要が高まっている。SPR をガスセンサに応用するためには 2 つの課題がある。1 つ目はガス分子による屈折率変化が小さいことから高感度化が必要なこと、2 つ目は特定のガス分子と結合する分子認識素子がなく、ガス分子の選択的検出が困難なことである。

本研究では、特定のガス分子を検出するために DNA を修飾した SPR センサによるガス分子吸着特性を評価した。感度を向上させるために、くさび形状をもつ Au 薄膜により SPR センサを高感度化し、エタノールとサリチル酸メチルの検出特性を評価し、吸着メカニズムを検証した。

製膜したくさび型 Au 薄膜に、濃度をそれぞれ 10 μ M に調整した SEQ1, SEQ2 と呼ばれる DNA の溶液を塗布し、乾燥・洗浄し DNA を固定化した。また、Au 表面へのガス分子の非特異吸着を防ぎ、DNA によるガス分子吸着特性を評価することを目的として、DNA 塗布前に OH 基と COOH 基で末端された混合 SAM 膜を形成した試料を図 1 のように作製した。

ガス分子吸着特性を評価するため、親水性のエタノールと疎水性のサリチル酸メチルの検出実験を行った。微量ガス発生装置により、窒素ガスをキャリアガ

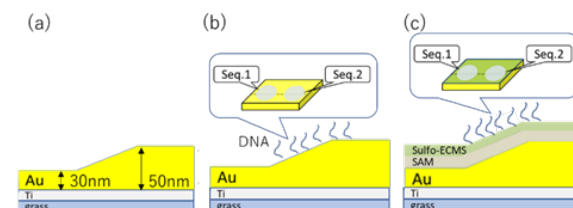


図 1 (a) くさび型 Au 薄膜 (b) DNA を固定したくさび型 Au 薄膜 (c) 混合 SAM 膜上に DNA を固定したくさび型 Au 薄膜

スとして各ガスを発生し 2 L/min. で供給した。波長 632 nm の p 偏光を入射光とし、レンズで集光することで角度分散を与え、ガラスプリズムにマウントした試料に入射した。反射光を CMOS カメラで撮影し、反射光の角度依存性に相当する輝度分布を画像として取得・解析し、信号変化を評価した。各ガス検出時の信号変化を図 2 に示す。ガス導入直後から1分後にかけて、信号が大きく減少した。これは、試料表面の水蒸気などの不純物が飛ばされたためと考えられる。ガス導入後10分を経過すると、DNA 固定試料の信号が DNA が固定化されていない試料よりも大きくなった。SEQ1, SEQ2 がエタノールとサリチル酸メチルを吸着

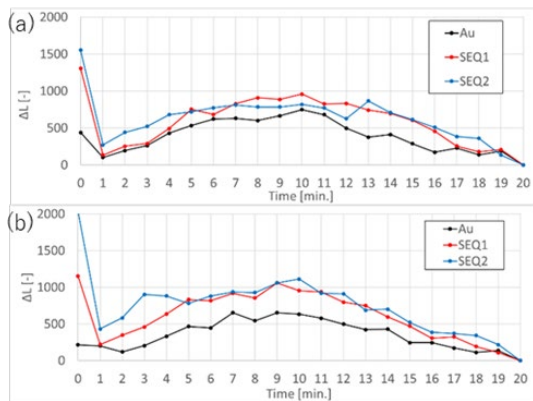


図 2 DNA/Au 試料の信号変化(a)エタノール(90ppm) (b)サリチル酸メチル(158ppb)

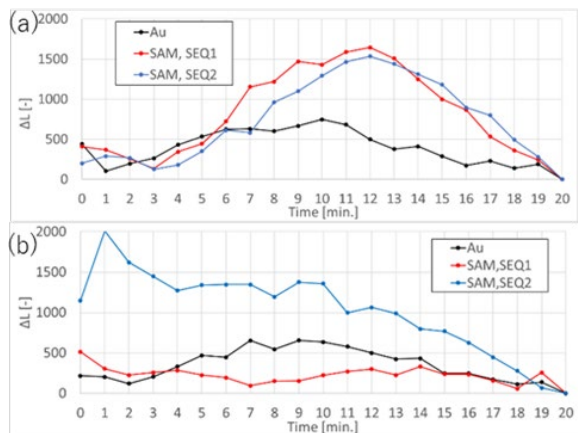


図 3 DNA/SAM/Au 試料の信号変化(a)エタノール(90ppm) (b)サリチル酸メチル(158ppb)

したと考えられる。図 3 に DNA/SAM/Au 試料の信号変化を示す。図 3(a)より SAM 修飾により、エタノール検出時の信号が増大したことが分かった。図 3(b)より SAM 修飾により、サリチル酸メチル検出時の信号が SEQ1 では小さく、SEQ2 では大きいことが分かった。SAM はエタノールを吸着する特性をもち、SAM とともに修飾した DNA では、SEQ1, SEQ2 の配列の違いでサリチル酸メチルに対する応答が異なった。このことから DNA や SAM の組み合わせによりガスを選択的に検出できる可能性があることがわかった。信号の大きさはエタノール濃度 4~90 ppm の範囲内では一定であった。サリチル酸メチルも同じ傾向が見られた。測定した濃度の範囲内では、表面に吸着されるガス分子の濃度が飽和したためと考えられる。今後、検出限界と更なる高感度化を検証する。

〔発表論文〕

1. Shogo Suzuki, Takumi Maeda, Takahiro Ogura, Shoma Suzuki, Terunori Kaihara and Hiromasa Shimizu, “Modulation of surface plasmon resonance by magnetization reversal in Au / Fe / Au trilayer and wedge structure for achieving higher refractive index sensitivity”, Japanese Journal of Applied Physics, 58, SBB106 (2021).
2. Hiromasa Shimizu, Takahiro Ogura, Takumi Maeda, and Shogo Suzuki, “A Wedge-Shaped Au Thin Film: Integrating Multiple Surface Plasmon Resonance Sensors in a Single Chip and Enhancing the Figure of Merit”, Frontiers in Nanotechnology, 3, 724528 (2021).