

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K14748

研究課題名（和文）分子マーカーの多種類同時計測を目指したスマートフォン型バイオセンサの開発

研究課題名（英文）Development of a Smartphone Biosensor for Simultaneous Measurement of Multiple Biomarkers

研究代表者

當麻 真奈（Toma, Mana）

東京工業大学・工学院・准教授

研究者番号：20756697

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、疾病や健康状態に関わる生体分子をスマートフォンのカメラで迅速・高感度かつ定量的に検出できるバイオセンサの確立を目的として、標的の生体分子をセンサ感応部の色の変化として測定可能な金属ナノ構造配列表面を開発した。具体的には、発色する金属ナノドームアレイ構造を用いてセンサ基板を作製し、比色型のプラズモニックバイオセンサの原理実証を行った。モデルイムノアッセイの実験では、比色法と従来の分光法では、概ね同等のセンサ性能が得られることが明らかとなった。また、腫瘍マーカーの一つである神経特異エノラーゼの検出性能評価では、蛍光標識等を用いない直接検出法で、診断基準値レベルの標的の検出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の遂行により、従来測定に必要であった分光器や光源を用いず、汎用のカラーカメラで高感度な生体分子検出が可能なプラズモニックバイオセンサの実証に成功した。これにより、プラズモニックバイオセンサの実用化が前進したといえる。本研究で開発した比色型のプラズモニックバイオセンサは、スマートフォンとの親和性が高く、将来的にはモバイルヘルス応用などが期待される。

研究成果の概要（英文）：This research aimed to develop a biosensor that can rapidly, sensitively, and quantitatively detect biomolecules related to disease and health conditions using a smartphone camera. Metal nanodome arrays were investigated as biosensor substrates, that change the surface colors by binding target biomolecules. The proof of concept of the colorimetric plasmonic biosensor using metal nanodome arrays was demonstrated. As the results, model immunoassay experiments showed that the colorimetric method provides a sensing performance as high as that by a conventional spectroscopic method. Furthermore, when evaluating the detection performance of nerve-specific enolase, one of the tumor markers, a direct detection method without a signal enhancement scheme such as fluorescent labeling successfully detected the target at the diagnostic level.

研究分野：プラズモニクス

キーワード：バイオセンサ プラズモニクス

1. 研究開始当初の背景

近年、人口の高齢化に伴う疾病の増加に加えて、食品の安全性や新たな感染症流行への懸念から、疾病に関連するタンパク質や核酸などの分子マーカーや病原体を含む生体分子の迅速・高感度検出技術の重要性が高まっている。可視光をセンサ信号として用いる表面プラズモンバイオセンサは、生体分子の高感度検出手法として確立されているが、光源や分光器が必要となるため、設備の整っていない現場でのその場測定には課題があった。そこで、スマートフォンに備わっているデジタルカメラやLED照明、通信機能を用いた測定法の開発に注目が集まっているが、これまでの報告例では回折格子や光ファイバーといった光学素子を含む付属部品を使用したものに限定されていた。そこで、スマートフォンのカメラで簡易に計測が可能なバイオセンサとして、本研究では比色型のプラズモニックセンサを開発した。プラズモニック色によって発色する金属ナノ構造をセンサ基板の感応部に用いることで、汎用性が高くカラーカメラでの計測がしやすいバイオセンサの実現を目指した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、疾病や健康状態に関わる複数の生体分子を同時に高感度・定量検出が可能なスマートフォン型のプラズモニックバイオセンサを開発することである。

3. 研究の方法

本研究では、鮮やかなプラズモニック色を示す金属ナノドームアレイ構造をセンサ基板の感応部に用いて、カラーカメラで撮像したセンサ感応部の画像を解析し、色空間座標で数値化した“色”をセンサ信号として用いた。研究項目は以下の4項目を設定した。

(1) 金属ナノドームアレイ構造の作製・評価

ここでは、水界面で鮮やかな発色が得られる金属ナノドームアレイ構造を決定するとともに、色による光学特性評価に適した画像撮影および解析法を精査した。具体的には、金属ナノドームアレイ構造のドーム径、配列密度および金属膜厚などの各パラメーターが光学特性に及ぼす影響を明らかにし、カメラの配置や照明、用いる色空間座標などを最適化した。また、基礎的なセンサ性能評価として、バルクおよび表面の屈折率感度測定を行った。

(2) モデルサンプルによるセンサ性能評価

作製した金属ナノドームアレイの基本的なセンサ性能はモデルサンプルを用いたイムノアッセイで評価した。測定では、反射分光法およびカラーカメラで撮影した画像からの色相角度解析を行い、両手法による検出感度の差異を信号対ノイズ比および検出限界濃度を指標として明らかにした。標的分子の直接計測では十分な感度が得られなかった場合には、信号増強プローブとして金属ナノ粒子を用いた信号増強法を検証することを計画していた。

(3) 腫瘍マーカーの検出感度評価

最終の研究項目では、実サンプルを想定したセンサ性能の評価を行う。本研究では、肺がんの分子診断に有用とされている分子マーカーである神経特異エノラーゼ (NSE) の検出を行った。

4. 研究成果

まず、センサ基板として用いる金属ナノドームアレイの作製と評価を行った。スピコート法でガラス基板上にポリスチレン (PS) 粒子膜を作製し、その上に銀薄膜を製膜した。走査型電子顕微鏡像 (図 1a) より、作製した金属

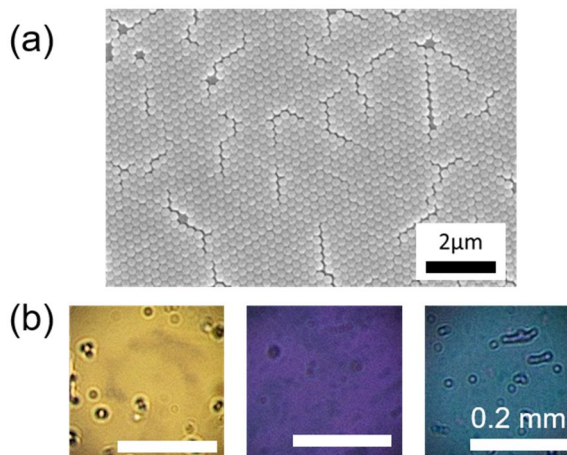


図 1(a)金属ナノドーム構造の走査型電子顕微鏡像。(b)粒径の異なる PS 粒子で作製した銀ナノドーム構造の反射像 (水界面)。

ナノドーム構造は二次元の多結晶膜になっていることが確認された。ナノドーム構造の作製に用いる PS 粒子の粒径によって、金属ナノドーム構造の発色を制御した。図 1 b に示すのは、PS 粒子の粒径を 200、250、300 nm としたときの銀ナノドームが水に接触している状態での反射像である。この 3 種の銀ナノドーム構造を用いて、プラズモニックセンサの基本特性であるバルク屈折率感度と屈折率分解能を画像解析による比色法で評価した結果、紫色に発色するセンサ基板で最も高い屈折率感度と分解能が得られた。センサ基板の発色と比色法によるセンサ感度を、FDTD 法による数値計算で考察した結果、実験結果と同様にセンサ基板が赤紫色(色相角度に換算して 300 度)の時に、最も屈折率感度が高くなることが示された。

次に、最適な発色が得られたセンサ基板を用いて、免疫アッセイを行った。ここでは、ウサギ IgG をモデルの検出標的とした。また、アッセイの状態をモニターし、従来法との比較を行うために、測定は自作の顕微分光装置を用いて行った。この装置では、同一のセンサスポットからの反射像撮影と反射分光測定を行った。図 2 にアッセイの各段階におけるセンサ基板の反射像を示す。センサ基板には金薄膜で被膜した銀ナノドーム構造を使用し、捕捉抗体の固定化のためにポリドーパミン修飾を行った(i)。次に、

(ii) モデルの標的分子としたウサギ IgG の捕捉抗体と (iii) 標的分子であるウサギ IgG をそれぞれセンサ基板表面に導入

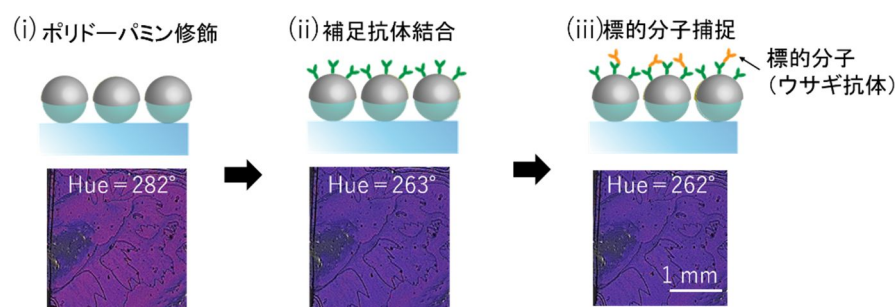


図 2 モデル免疫アッセイの概略図とセンサ基板の反射像。

し、バッファで洗浄した。ポリドーパミン薄膜への捕捉抗体の結合前後で、反射スペクトル中の共鳴波長が長波長シフトするとともに、色相角度が 282 度から 263 度に変化し、基板の色の青みが強くなった。また、ウサギ IgG の結合では、色相角度が 1 度変化した。続いて、ウサギ IgG の濃度を 0.1 ~ 100 nM までの範囲において比色法でセンサ信号を測定した(図 3)。ウサギ IgG の濃度に依存して、センサ信号が大きくなり、センサ信号の標準偏差()を用いて求めた検出限界濃度は 0.13 nM であった。また、比色法と分光法の測定結果は概ね一致しており、分光器を用いない簡易な比色法でも生体分子の高感度な直接検出が可能であることが示された。

続いて、小細胞肺癌マーカーとして用いられている神経特異エノラーゼ(NSE)の測定を行った。モデル免疫アッセイの実験と同様に、比色法で NSE の検出を行ったところ、バッファ中での検出限界濃度は 270 pM であった。これは、NSE の診断基準値(347 pM)を下回る濃度であり、本研究で提案した比色型のプラズモニックバイオセンサで、癌マーカーの検出が実現可能であることが示された。今後、光学系を改良し、複数成分の同時検出を進めていく。

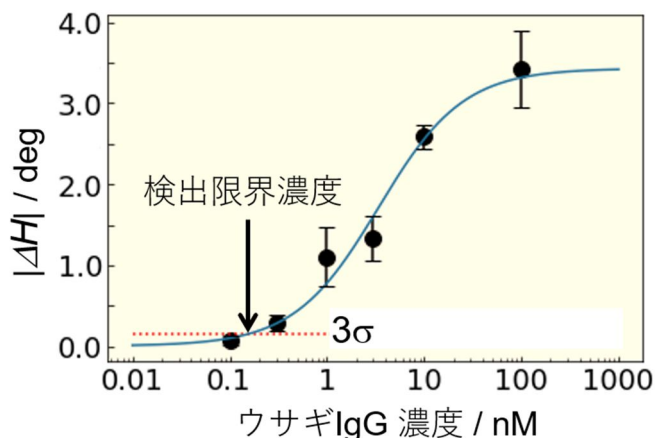


図 3 ウサギ IgG 濃度に対するセンサー信号の定量プロット(比色法)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sugimoto Yosuke, Kajikawa Kotaro, Toma Mana	4. 巻 729
2. 論文標題 Tuning plasmonic colors of Ag nanodomains by the arrangement of polystyrene beads template	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Crystals and Liquid Crystals	6. 最初と最後の頁 61 ~ 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15421406.2021.1946987	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Toma Mana, Itakura Yuji, Kajikawa Kotaro	4. 巻 33
2. 論文標題 Effect of Arrangement of Ag Nanodomains on Performance of Plasmonic Sensor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 201 ~ 201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2021.3071	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Toma Mana, Itakura Yuji, Namihara Shinnosuke, Kajikawa Kotaro	4. 巻 25
2. 論文標題 Sensitive Label Free Immunoassay by Colorimetric Plasmonic Biosensors Using Silver Nanodome Arrays	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Advanced Engineering Materials	6. 最初と最後の頁 2200912 ~ 2200912
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adem.202200912	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Toma Mana, Namihara Shinnosuke, Kajikawa Kotaro	4. 巻 15
2. 論文標題 Direct detection of neuron-specific enolase using a spectrometer-free colorimetric plasmonic biosensor	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Analytical Methods	6. 最初と最後の頁 2755 ~ 2760
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d3ay00590a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 杉本 陽祐, 梶川 浩太郎, 當麻 真奈
2. 発表標題 金属ナノピラーアレイのプラズモニック色
3. 学会等名 第69回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 並原 慎之輔, 梶川 浩太郎, 當麻 真奈
2. 発表標題 比色型プラズモンバイオセンサによる生体分子の直接検出
3. 学会等名 第69回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 當麻 真奈, 板倉 雄士, 梶川 浩太郎
2. 発表標題 Plasmonic coloration of metal nanodome arrays for portable biosensor applications
3. 学会等名 The 2020 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2020) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 當麻 真奈, 板倉 雄士, 並原 慎之輔, 梶川 浩太郎
2. 発表標題 Biosensor application of plasmonic colors from metal nanodome arrays
3. 学会等名 2021 KJF International Conference on Organic Materials for Electronics and Photonics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 當麻 真奈
2. 発表標題 機能性ナノ構造表面で創る光学バイオセンサ
3. 学会等名 2021年度 第3回 光材料・応用技術研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 並原 慎之輔, 當麻 真奈, 梶川 浩太郎
2. 発表標題 Direct immunoassay by colorimetric plasmonic biosensor utilizing Ag nanodome arrays
3. 学会等名 2021 KJF International Conference on Organic Materials for Electronics and Photonics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本 陽祐, 當麻 真奈, 梶川 浩太郎
2. 発表標題 Plasmonic color generation by Ag nanopillar arrays
3. 学会等名 2021 KJF International Conference on Organic Materials for Electronics and Photonics (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本 陽祐, 當麻 真奈, 梶川 浩太郎
2. 発表標題 銀ナノピラー構造の発色による屈折率センシング
3. 学会等名 第6回フォトニクスワークショップ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本 陽祐, 當麻 真奈, 梶川 浩太郎
2. 発表標題 銀ナノドーム配列によるプラズモニック色の入射角度依存性
3. 学会等名 第82回応用物理学会 秋季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 當麻真奈
2. 発表標題 Color generation in plasmonic metasurface and biosensor application
3. 学会等名 11th International Symposium on Organic Molecular Electronics (ISOME 2020) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 當麻真奈
2. 発表標題 モバイル応用を目指した比色型プラズモニックバイオセンサー
3. 学会等名 有機エレクトロニクスデバイス・材料に関する研究討論会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 當麻真奈
2. 発表標題 Spectrometer-free Plasmonic Biosensors Using Colors of Metal Nanodome Arrays
3. 学会等名 The 7th A3 Metamaterials Forum 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京工業大学リサーチリポジトリ
https://t2r2.star.titech.ac.jp/cgi-bin/researcherpublicationlist.cgi?alldisp=1&q_researcher_content_number=CTT100794803
東京工業大学STARサーチ
<https://search.star.titech.ac.jp/pursuer.act?k=K0zIUMwuni&ssToken=a24616f4ad44063d96892cafccd1c52c&from=basic&page=&sort=&order=>
Google scholar
<https://scholar.google.com/citations?user=04UXBRsAAAAJ&hl=en>
Research gate
<https://www.researchgate.net/profile/Mana-Toma>
梶川研究室ホームページ
http://www.opt.ip.titech.ac.jp/index_j.htm

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------