

—小特集 プラズモニク材料の基礎と最新展開 (II)—

表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光 (SPFS) 法を用いた
新規免疫測定システムの開発永江剛典*[†]・野呂奈緒*・小島 駿*・金子智典*・
中村幸登*・二宮英隆*・彼谷高敏*

*コニカミノルタ(株)開発統括本部 東京都日野市さくら町1番地 (〒191-8511)

[†] Corresponding Author, E-mail: kosuke.nagae@konicaminolta.com

(2018年2月6日受付, 2018年2月22日受理)

要 旨

表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光 (SPFS) は, 金属表面自由電子と伝播光子の共鳴現象 (Surface Plasmon Resonance : SPR) によって誘起された局在増強電場を蛍光励起エネルギーとして利用する蛍光検出技術の一つである。SPFSは, 励起エネルギーの局在化とセンサ光学設計により一般的な蛍光検出法 (全反射蛍光検出や共焦点蛍光検出など) と比較して大幅にバックグラウンドノイズを抑制することが可能なため, システム性能として高いシグナル/ノイズ比 (S/N) を得ることが可能である。本稿では, 体外診断システムの検出技術として応用するための種々の検討を通じて, 自動化されたSPFS免疫測定システムを開発した。また, 前立腺がん診断で汎用されている前立腺特異抗原 (PSA) をモデルマーカーとしてSPFS免疫測定システムの性能検証を実施した。

キーワード : SPR, SPFS, PSA, イムノアッセイ

1. 緒 言

“がん”は先進国において主要な死因の一つであり, 一般的に浸潤および転移へ進行することで治療が難しくなる特徴を有している。このため, 早期がん診断が治療においてもきわめて重要であり, これまでさまざまな診断法や治療法が開発されてきた。肺がん検診の胸部エックス線検査, 大腸がん検診の内視鏡検査や便潜血検査, 乳がん検診の乳房エックス線検査 (マンモグラフィ), 胃がん検診の内視鏡検査など対象となる癌種に応じてさまざまな検査が現在運用されている。血液検査は, 侵襲性が比較的安く廉価であることから日常診療において幅広く利用されている検査法である。この検査において, がん細胞が作る特殊なタンパク質 (腫瘍マーカー) を測定することで, がんの有無や進行具合, また治療の効果などを予測することが可能である。一方, 早期がんでは陽性にならない場合 (偽陰性) やがんではないのに陽性を示す場合 (偽陽性) もあり, 腫瘍マーカーの特異性の向上がこれまで常に必要とされてきた。このため, 「腫瘍マーカーだけではがんの診断はできない」ことが現状である。現在, 腫瘍マーカーを定量分析する方法として, Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) が汎用的に利用されている。ELISAは, 腫瘍マーカー (抗原) に対して

特異的に結合する抗体との反応 (抗原抗体反応) を利用し, 腫瘍マーカー量を酵素反応によってシグナルに変換する方法である。必要とされる測定感度性能や抗体性能, 抗体準備の制約に応じて, 直接吸着法やサンドイッチ法, 競合法などいくつかの方法が確立されており, 酵素反応により生じた吸光変化や発光等をシグナルとすることで高い感度性能を実現している。現在血液検査において最も汎用的に利用されているものの, 高い定量性を保証するためには抗原抗体反応および酵素反応の制御が重要である。とくに, 酵素標識や酵素反応温度制御はシステム全体の性能保証に重要であり, ELISAにおいて対象とすることが難しい腫瘍マーカーが少なからず存在する。

SPRは, 金属表面自由電子と光子が共鳴する現象であり, 金属平板表面で誘起される伝播型SPRと, 金属ナノ粒子表面などで誘起される局在型SPRに大別される。また伝播型SPRは, 共鳴の場として光学プリズムを用いる方式 (Prism-Coupled SPR : PC-SPR) と, 金属ナノ周期構造を用いる方式 (Grating-Coupled SPR : GC-SPR) が知られている¹⁾。いずれの方式においても, SPRにより誘起された局在増強電場を励起エネルギーとして用いることで, 極低光量の条件下で極少量の低分子蛍光色素に由来する蛍光シグナルを定量することが可能である。したがって, 低分子蛍光色素で標識した抗体を用いた高感度免疫測定システムへの応用が可能である。

本稿では, SPRおよびSPFSの原理に関する基礎的検討に加えて, モデルマーカーとしてPSAを用いることで, SPFSを蛍光検出原理とする新規免疫測定システムの性能検証を実施した。

2. SPR および SPFS 原理の基礎的検証

Fig. 1にPC-SPR原理の概略図を示す。まず, 金属薄膜を有し



〔氏名〕 ながえ こうすけ
〔現職〕 コニカミノルタ(株)開発統括本部
〔趣味〕 登山, 料理
〔経歴〕 2009年東京大学大学院機械工学専攻修士課程修了。