

プラズモン増強蛍光イメージングによる唾液中のカンジダマンナン検出

Candida Mannan in saliva detected by plasmon-field enhanced fluorescence imaging

関西学院大 院理工¹, 信州大 医² °能見 隆登¹, 八子 将也¹, 名和 靖矩¹, 田和 圭子¹,
栗田 浩²

Kwansei Gakuin Univ.¹, Shinshu Univ.², °Ryuto Noumi¹, Masaya Yako¹, Yasunori Nawa¹,

Keiko Tawa¹, and Hiroshi Kurita²

E-mail: ktawa@kwansei.ac.jp

免疫力を迅速かつ定量的に評価することは、医療現場や自宅での体調管理に役立つ。信州大の栗田らによって、口腔カンジダ菌に含まれるカンジダマンナン (CM) を免疫力マーカーに利用できることが示された。先行研究では、ホールアレイ型プラズモニクチップと蛍光顕微鏡イメージングにより、CM 標準溶液の定量評価を行うことができた。また、角度走査型プラズモン増強蛍光測定では、唾液中の CM を定量評価することもできた¹。そこで本研究では、蛍光顕微鏡イメージングにより、唾液中の CM の計測に取り組んだ。プラズモニクチップにおける周期構造のピッチの選択によって、入射 (励起) 波長と検出 (発光) 波長で 0 度付近の低角に共鳴角が表れるよう調整し、励起増強と発光増強効果を得て、高感度検出を目指した。

本研究で使用したプラズモニクチップは、ピッチ 495 nm×475 nm の二次元ホールアレイで、銀薄膜と SiO₂ 膜を RF スパッタ法によってそれぞれ 80~100 nm, 20~30 nm で調製した。この表面をアミノ基修飾したプラズモニクチップに両末端がスクシイミドで修飾された PEG クロスリンカーの片末端を結合し、もう一方にカンジダマンナン捕捉抗体を結合させた。そこへカンジダマンナンを含む唾液検体 (CM を 0.67 ng/ml および 0.33 ng/ml 含有), 検出抗体, Alexa®647 標識二次抗体でサンドイッチイムノアッセイを構築した。正立落射蛍光顕微鏡で x4 の対物レンズと Cy5 蛍光フィルターを用いて蛍光像 (Fig. 1) を撮影し、パターン内外での蛍光強度を評価した。

プラズモニクチップでは、プラズモニクパターン上の蛍光はパターン外の平坦表面と比べて 9.7 ± 2.5 倍の増強が見られた。各唾液検体について 10 回以上の計測の結果、平均値を求めると 0.67 ng/ml の試料では 0.33 ng/ml の試料より大きな蛍光強度が得られた。今後は唾液中の夾雑物による非特異吸着を減らすアッセイや、唾液の前処理について最適化し、より多くの唾液検体の計測を進めていきたい。

謝辞 光硬化性樹脂をご提供頂いた東洋合成工業に感謝申し上げます。

参考文献 1) M. Yako et al., *Jpn. J. Appl. Phys.* **62**, SG1028 (2023).

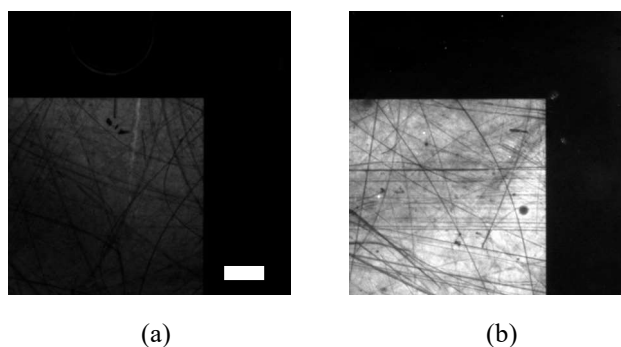


Fig.1 Fluorescence images for saliva samples prepared at CM solutions of (a) 0.33 ng/ml and (b) 0.67 ng/ml. Bar corresponds to 200 μ m.