

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名:ハイブリッド局在SPRを用いた生体分子の環境応答性計測

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者 青山 茂 (オムロン株式会社技術本部 参与)

主たる共同研究者

和沢 鉄一 (大阪大学大学院生命機能研究科 客員助教授)

(～平成 18 年 3 月)

### 3. 研究実施概要

#### 3-1 研究の目的

生物は、極めて多数の生体分子間相互作用のネットワークが機能することによって形成されるシステムであり、生命現象の動的挙動を、簡便且つリアルタイムに把握するには、その事象を司る生体分子間相互作用を非標識、リアルタイムに観察する手法が求められる。本研究では、生体分子と同程度であるナノオーダーサイズの独自構造を表面プラズモン共鳴(SPR; Surface Plasmon Resonance)センサ表面に設けることにより、金属と光の相互作用をナノスケールで自在にコントロールし、センサとして応用することで、従来困難であった高感度、小型、簡便なリアルタイムセンサを構築し、生命現象の解明に寄与することを目的とする。

#### 3-2 研究実施内容・経緯

現在、生体分子の動的観察の手段として、SPR センサが実用化されている。SPR センサはセンサ表面近傍の生体分子の反応を屈折率変化としてダイレクトに検出するため、蛍光等の標識を必要としないという利点を有する。しかし、そのセンシング領域は光の回折限界によって支配されるためセンサ表面から数百 nm と、分子サイズと比べて数十倍の範囲の影響を受け、ターゲット以外の溶液層の温度変化や夾雑物の影響によって感度が低下するといった課題があった。これらの課題を回避するために、従来の装置では厳密な温度コントロールや夾雑物の除去といった複雑な機構が必要となり、その結果装置が大型化、高価格化してしまう、またそれでも尚、低アフィニティの物質は検出が困難といった様々な課題があった。

一方で、それらの課題を解決する手段として、近年ナノフォトニクス分野で局在型の表面プラズモン共鳴(LSPR; Localized Surface Plasmon Resonance)が注目を集めている。LSPR は金属ナノ構造において特定の条件で光を入射した場合に、光の回折限界以下の領域で共鳴が発生する現象であり、その共鳴電界の局在性をセンサに利用することでバックグラウンドノイズの影響を排除した高 S/N な検出デバイスが期待されている。しかし、現段階ではその発生メカニズムの解明、基本特性の確認といった基礎研究の報告がほとんどであり、センサとしての実用化には、高感度化、デバイス作製プロセスの安定化など様々な障壁が存在している状況であった。

本研究では、ナノ光学設計技術の応用により、ナノオーダーの金属構造と光波の相互作用現象を解明し、生体分子を検出するためのセンサとして効果的な構造を明らかにした。これにより、センシング領域を光の回折限界以下のナノサイズまで任意に制御することが可能となり、センサの高 S/N 化、小型、簡便な生体分子間相互作用センサシステムの構築を可能とした。さらに、生命現象解明のためには本センシングデバイスを幅広い研究者が手軽に使えるように普及可能であることが重要な鍵となる。研究チームでは、デバイスの安定した作製を実現するセンサ構造の導出とナノ微細加工プロセスの構築を行い、生体分子固定化技術の構築を含む、本センサを用いた応用検証を実施した。

#### 3-3 研究成果

上記の取り組みにより、耐環境特性が従来よりも大幅(10倍～)に向上したセンシングを実現した。この結果、従来では困難であった高感度、小型、簡便なセンシングが可能となった。以下に本研究で得られた成果を要約する。

- (1) センサ表面に極微細(～100nm)なギャップ構造を狭ピッチ(300nm)で作製することにより、ギャップ内部において局在した表面プラズモン共鳴モードが発生することを発見。今回発見されたモードは、ギャップ深さ、幅の調整により、従来困難であった広範囲での感度領域や共鳴波長のチューニングが容易に可能であることが明らかとなった。
- (2) 上記ギャップ構造を用いることで、ナノパターンを高速で転写するナノインプリント法を応用したデバイス作製が可能となり、ローコスト、高品質、高 S/N(従来比 10 倍)なセンサデバイスを実現した。さらにナノ・マ

イクロハイブリッド構造の実現により、LSPR 用のナノ構造とサンプル送液用のマイクロ流路を同時一括に作製することに成功した。

- (3) 本デバイスを使用するためのセンサシステムとして、全反射等の特殊な光学系が不要といった LSPR の特徴を活かすことで、W160×D160×H144mm(3kg)と従来市販装置比約 20 分の 1 の小型プロトモデルの構築を行った。これは流路系等を含むオールインワンの SPR システムとしては現在世界最小である。さらに、簡易的な検査を行うためのシステムとして片手サイズのシステムも現在構築中である。
- (4) 実際の生体分子の相互作用検出においては、センサ表面に対する抗体等のプローブ分子の密度や配向状態を、できるだけ高い精度で制御することが非常に重要となる。本研究では、自己組織化膜を用いた共有結合方式の他、ビオチン-アビジン結合や融合タンパク質を用いた方式など、系統の異なる複数の固定化方法を比較検討した。優れた結果を示した方式においては、詳細な条件の最適化等を行うことにより、非特異吸着を低減し、高 S/N を達成した。
- (5) センサの特性評価用のモデルタンパク質として、肝臓癌の腫瘍マーカーである AFP ( $\alpha$ -fetoprotein) の検出を行い、直接法で 20ng/ml、金コロイドを用いたサンドイッチ法で 1ng/ml と非常に高感度な検出を実現した。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

生体分子間相互作用を計測する装置として、ナノオーダーサイズで独自構造の表面プラズモンセンサーを開発し、従来の装置に比べて 10 倍の高感度、容積 20 分の 1 の小型で、最終的には手のひらサイズの簡便な装置の開発に成功した。肝臓がんの腫瘍マーカーを例にとり、その実用法を示している。その過程では申請時に予定していたハイブリッド局在 SPR の方式に固執せず、研究目的の本質に立ち返り再現性により優れた方式を採用し、優れた研究成果を得る事ができた。代表者の強いリーダーシップのもと、研究チームが十分に機能し、方法の変更後の順調な執行状況が推察できる。

企業のチームとして、実用化を目指した装置開発研究としての確に外部発表もなされた。

##### 4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

当初のアイデアを元に着実に開発を進めた。CREST の領域の中で企業に基盤を持ち、基礎研究を離れた技術開発のチームであり、ユニークである。製品化を前面に押し出したチームの存在はこの領域の中で存在感があった。実用化までには、技術的課題の他にも市場性などの多くの問題を克服する必要があるが、ぜひ製品化まで導いて頂きたい。今後の企業研究者の基礎研究プロジェクトへの参画の成功例となることを期待する。昨今、企業においては長期にわたる基礎研究の遂行は困難な状況になっている。このような状況の中、企業研究者が参画し成果を挙げたことは企業研究者を勇気付ける好例である。

生体分子間相互作用の高感度計測が小型・安価な装置で、しかもより高感度で簡便に行えるようになれば、今後の医学・生命科学の発展に多大な貢献をもたらすと期待される。国内外の類似研究との比較でも、その高感度と小型・安価である点で極めて優れている。いずれは医療現場での簡易血液検査などにも応用が期待される。また在宅医療の普及や、医療の分野のみならず環境、食品工業界にも大いに役立つであろう。国民の健康にも直結する分野への展開も期待できるので、その分野での有用性が示されることで、社会的に大きなインパクトを与えられると思われる。

##### 4-3. 総合的評価

生体分子間相互作用を計測する装置として、ナノオーダーサイズで独自構造の表面プラズモンセンサーを開発し、従来の装置に比べて高感度、小型化に成功し、手のひらサイズの簡便なセンサーの開発に成功した。

製品化を目指し、今後簡便な診断装置として医療現場でも活用されるものと期待される。また、研究で開発した小型、簡便、高S/Nなセンシングシステムの実現、ナノプリント法を応用したナノデバイス作成技術は汎用性ある応用が可能であり、さまざまな生体分子間の相互作用を手軽に検出することを可能にするものと期待できる。

今後、実用化に向けた技術的な展開が見込まれる。微量物質のセンシング技術は、様々な応用展開が可能かつ重要な課題である。従って、今回開発した成果を早い時期に実用化し、様々な分野での応用を検討し、その有用性を示すことで、例えば、環境ホルモン検出、有害な微量の化学物質検出、新型インフルエンザ等のウイルス等の検出等、保健、医療、環境、衛生分野への展開が期待され、また食品工業界へも役立つことが予想される。

今後実際に製品化され社会に浸透していくかどうかで真に意味のある **CREST** 研究であったかは問われることになる。あるいは、測定系ごとに要求される実地的な処理技術を現場の苦情に従って出していけるかどうか問われることになる。

このように実用的デバイスの作成、コンパクトなシステムの構築に成功したことは大いに評価されるが、今後応用研究も十分に行い、従来法との違いや優位性を十分に示してほしい。