【ノート】

金属コロイドの集積を検出する方法の開発

バイオスタッフ　　中野道彦

Fundamental study on a detection of colloidal metal concentration

Michihiko Nakano

1．はじめに

インフルエンザ検査や妊娠検査などの簡易診断薬として用いられるイムノクロマト法に、金コロイドが広く利用されている[1)]。イムノクロマト法は、抗原－抗体反応を基にした簡易検出法で、一般的には、一次抗体に金コロイドや着色ビーズを結合させて使用し、被検出物の存在により、二次抗体固定部にその金コロイド／一次抗体／被検出物の複合体が集積する。この集積の結果、当該部が呈色（金コロイドの場合は赤紫色）し、それを目視で判断する。本研究では、イムノクロマト法への適用を前提に、金コロイドの集積を電気的に計測する方法を検討している。

ここでは、計測手段として二つの方法を試みたので、その方法と結果について報告する。

2．実験

2.1　ニトロセルロース上の金コロイドの測定

既存のイムノクロマト法に適用するため、ニトロセルロース上に集積した金コロイドの測定を試みた。

模擬試料として、C反応性タンパク質（CRP）を検出するイムノクロマト法キットを用いた。測定には、ニトロセルロース上の金コロイド集積部を上下から挟み込むような電極を作製し使用した。

異なる濃度のCRP溶液をそれぞれキットに添加したあと、金コロイド集積部を、図１にあるように作製した電極で挟んだ。そして、その電極間の静電容量を測定した。静電容量の測定には、LCRメーター（HP 4275A、KDK KCA-06 Test Adapter）を用いた（測定周波数：１MHz）。また、対照実験として、ニトロセルロース上の金コロイドの集積を反射光強度で測定する光学測定器（大塚電子DiaScan）[2)]でも同様に測定した。

2.2　マイクロギャップ電極間の金コロイドの測定

一方、新規測定法を試みるために、ガラス基板上に図２に示すようなマイクロギャップ電極（電極間距離：約30μm）を作製した。この電極間に金コロイドを電極間に集積させて、電気抵抗および静電容量を測定した。金コロイドを電極間に集積するために、交流電界による数珠玉形成を利用した[3)]。

金コロイド溶液（50nmφ、0.0065wt%、田中貴金属）をマイクロギャップ電極上に滴下し、50度程度に加温しながら、交流電圧（40kHz、15Vpp、NF Function Generator WF1973）を印加した。これは、乾燥しながら交流電界を印加し数珠玉形成を促し、電極間に金コロイドを集積するためである。金コロイド溶液が乾燥したのち、LCRメーター（日置 ZM2353）で電極間を測定した（測定周波数：40kHz）。

3．結果と考察

最初に、イムノクロマト法キットを挟み込み電極で測定した結果を示す（図３）。反射光強度で測定した場合は、測定下限が0.5ngであった。その一方で、挟み込み電極で静電容量を測定すると、今回使用したCRP量の全ての濃度範囲に渡って（10ng～0.1ng）、感度良く測定できた。また、CRPを添加しないときは、静電容量値が3.4pFであった。これは、0.1ng以下でも測定可能であることを示唆している。

反射光強度測定は目視と同程度の感度であるため、本方法は目視よりも高感度であると言える。

次に、マイクロギャップ電極で測定した結果を示す（図４）。金コロイド溶液を純水で希釈して、その希釈率に応じた電気抵抗／静電容量を測定した。いずれの値も金コロイドの希釈率に依存して変化し

【ノート】

ていることがわかった。ただし、最大でも10分の１程度の希釈率であるので、十分に感度が高いとは言えない。

４．まとめ

金コロイドの集積を測定するために、二種類の電極形状を試みた。既存のイムノクロマト法キットに対応するために、挟み込み型電極を考案した。この電極で静電容量変化を、目視と同程度の反射光強度測定よりも高感度に測定することができた。一方、新規測定系としてマイクロギャップ電極を考案した。金コロイドの集積に対して電気抵抗および静電容量を測定したところ、集積に依存した変化を観測した。しかし、感度が高いとは言えず、今後の改良が必要であることがわかった。

謝辞

本研究は、平成20年度科学研究費補助金（奨励研究）（課題番号：20920017）の補助を受けて行われました。

参考文献

１）岡本浩治：J. Vac. Soc. Jpn，Vol.51，pp.727-730，2008.

２）井上友邦，森正　昭：医科器械学，Vol.72，pp.384-386，2002.

３）Minglin Li et al.：IEEE Trans. Nanotechnol.，Vol.７，pp.477-479，2008.

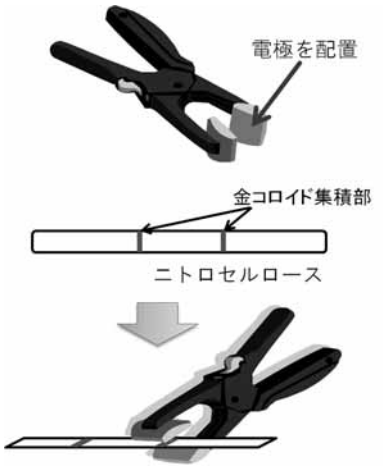

図１　挟み込み電極

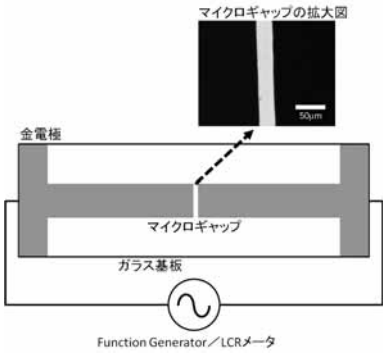

図２　マイクロギャップ電極

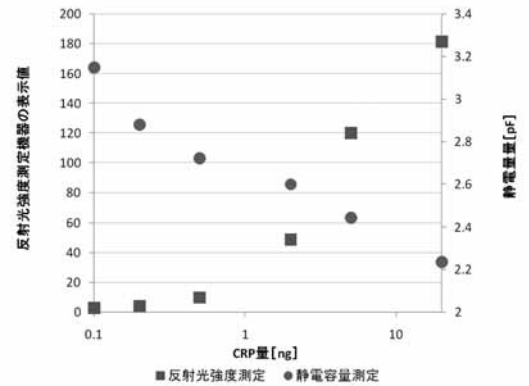

図３　挟み込み電極で測定した結果

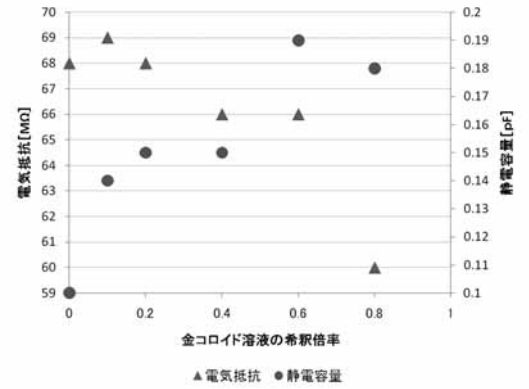

図４　マイクロギャップ電極で測定した結果