

Nanoplasmonics 1:

プラズモニックナノホールを使用したウイルス様粒子の捕捉と検知技術

Insplorionの局在表面プラズモン共鳴 (LSPR) 技術を利用したXNano IIシステムは、プラズモニックナノ構造からのスペクトルの変化をリアルタイムにモニターし解析することが可能です。Insplorion LSPRのナノプラズモンセンサー基板は、様々なナノ構造のセンサーを標準でラインナップしていますが、カスタムメイドのセンサーを供給することも可能です。XNano IIは、これらのナノプラズモンセンサーと温度制御が可能なマイクロ流路、フロー方式のサンプル供給システムを使用して、抗ウイルス薬の評価やウイルス感染検査のための検出・特性評価技術の開発に利用可能です。このアプリケーションノートでは、XNano IIとウイルス様粒子 (VLP) を捕捉のために特別に設計した金ナノホールアレイセンサーを利用した事例についてご紹介します。

Introduction

抗ウイルス薬の評価およびウイルス感染診断のための分子検出・特性評価技術の開発には大きな関心が寄せられています。抗ウイルス薬評価の標準的な方法は、長いインキュベーション時間や細胞培養モデルを確立する必要性など、いくつかの問題がありました。固液界面の測定技術は、捕捉されたウイルス粒子と候補薬物との間の直接モニタリングを可能にする有望な代替手段です。

プラズモニックナノホール基板は、ウイルス粒子を捕捉するだけでなく、薬物候補に対する粒子反応をラベルフリーで検出することができます。このようにInsplorion LSPRは補足とモニタリングを同時提供できるため、これらのアプリケーションにとって非常に興味深い情報を提供することが可能な測定技術基盤となっております。

実験手順

ナノホールアレイは、ナノインプリントリソグラフィでパターン化されたSiテンプレートから製造されています。深さ600 nm、直径160 nmの円形の穴が500 nm周期で並んでいます。厚さ200 nmの金の膜をSiテンプレート上に蒸着し、続いて光学エポキシを使用して剥離し、ガラス支持体に転写しました。このようにして作製したアレイのイメージを図1に示します。

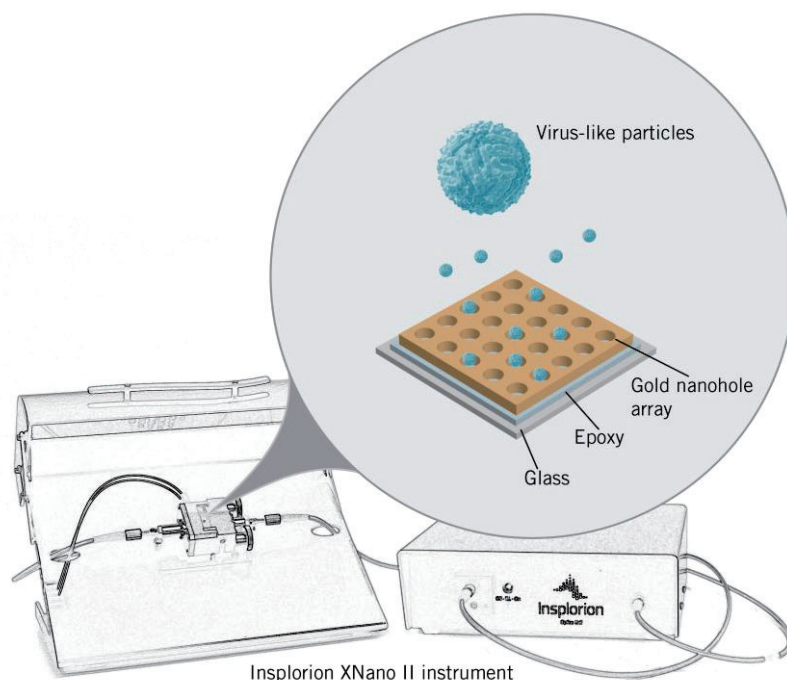


図1: Insplorion XNano IIシステムのセットアップ図。吹き出し図は、ナノホール内のウイルス様粒子を選択的に捕捉するように設計された周期的なナノホールアレイを示しています。

ウイルス粒子の非特異的吸着を防ぐために、メトキシポリエチレングリコール (mPEG) の自己組織化単分子膜を金の表面に形成しました。ウイルス様粒子は、30 mol% コレステロールと70 mol% DOPCから成る脂質小胞を押し出 (extrusion) 法によって直径75 nmに調製しました。ウイルス活性 (膜破壊) を示す合成ペプチドを使用して、ナノホールアレイのセンシング能力を検証しました。

結果

周期的なナノホールアレイは、異なるプラズモンモードに起因する3つの透過ピークを示します (図2A)。これらのピーク的位置は、局所的な誘電環境に非常に敏感です。バルクの屈折率変化に対するプラズモンのピーク位置の感度は、水-グリセロール混合物を使用して求めました (図2B)。Peak 2は220 nm / RIUのバルク屈折率感度を示しており、その後の計測ではPeak 2の変化量を使用しました。ナノホールアレイはmPEGによりウイルス様粒子の金への吸着を防ぎ、ナノホールへの粒子の捕捉を容易にしました。図2Cは、mPEG修飾ナノホールアレイ上に0.3 mg / mLのウイルス様粒子の溶液を流している間の、経時的スペクトル変化を示しています。結果として生じる約1 nmのスペクトルシフトは、SEM画像に示されているように、ウイルス様粒子の捕捉に起因しています。図2Dは、膜破壊ペプチドを添加した時の応答を示しています。結果として生じる約0.5 nmのブルーシフトは、捕捉された粒子のラブチャと除去によるものです。

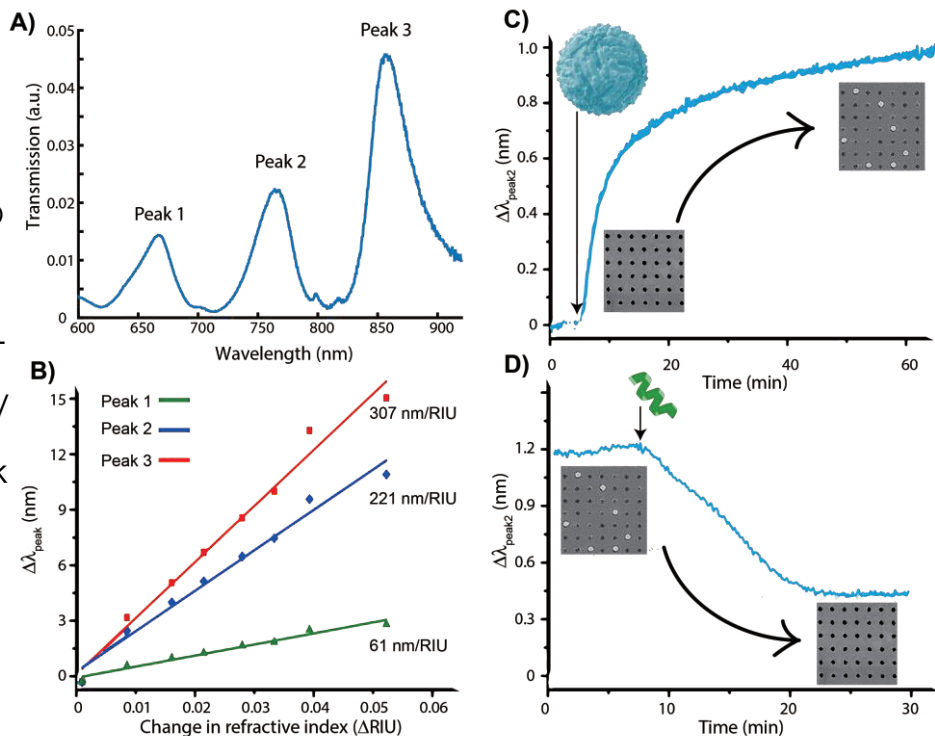


Figure 2:A) 水系バッファー中の金ナノホールアレイの光透過スペクトル。異なるピークは、ナノホールの異なるプラズモンモードに起因します。中央のピークは、バルクの屈折率の変化に対して最高の感度を示すため、後続のプロットで使用されます。B) 3つのプラズモンピークのバルク屈折率感度。C) ナノホールアレイへのウイルス様粒子の吸着中のピーク2の位置のシフト (挿入図は前後のSEM画像を示しています)。D) 膜破壊ペプチドの注入中のピーク2の位置のシフト。

結論

測定結果からプラズモニクナノホールを使用した測定技術は、ウイルス粒子を捕捉し、抗ウイルス薬候補の薬効を分析・評価するために非常に有効なセンシングスキームとなります。XNano IIシステムは、この研究で使用されているナノホールアレイなどのプラズモンナノ構造の特性評価を可能にします。

Note

[1] この研究は、シンガポールのNanyang Technological大学のNam-Joon Cho教授のグループで行われました。

Joshua A. Jackman, Eric Linardy, Daehan Yoo, Jeongeun Seo, Wei Beng, Ng, Daniel J. Klemme, Nathan J. Wittenberg, Sang-Hyun Oh, and Nam-Joon Cho. Plasmonic Nanohole Sensor for Capturing Single Virus-Like Particels toward Virucidal Drug Evaluation. *Small* **2015**. DOI: 10.1002/sml.201501914



meiwafosis.com
メイワフォーシス 株式会社

東京 TEL (03) 5379-0051 FAX (03) 5379-0811
〒160-0022 新宿区新宿1-14-2 KI御苑前ビル
大阪 TEL (06) 6212-2500 FAX (06) 6212-2510
〒542-0074 大阪市中央区千日前1-4-8 千日前M'sビル9F
テクノロジーラボ 東京都立産業技術研究センター 〒135-0064 東京都江東区青海2-4-10 製品開発支援ラボ318

名古屋 TEL (052) 686-4794 FAX (052) 686-5114
〒464-0075 名古屋市中千種区内山3-10-18 PPビル3F
仙台 TEL (022) 218-0560 FAX (022) 218-0561
〒981-3133 仙台市泉区中央1-28-22 プレジデントシティビル3階