

様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成24年度）

1. 機関番号

3	2	6	9	2
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 東京工科大学

3. 研究種目名 基盤研究(C) 4. 補助事業期間 平成23年度～平成25年度

5. 課題番号

2	3	5	1	0	1	3	8
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題 積層構造基板における蛍光と背景光の偏光の違いを利用したタンパク質の超高感度検出

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
9 0 3 6 7 1 9 4	アキモ タクオ 秋元 卓央	応用生物学部	准教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

銀と酸化アルミニウムを積層させた積層構造基板を作製した。酸化アルミニウムの膜厚は過去の実験結果より90 nmとした。そこに100 ng/mlの蛍光物質RhodamineBを滴下した。また、市販の蛍光顕微鏡を改造し、高コントラストな蛍光検出を可能にする顕微鏡を試作した。具体的には、励起光が積層構造基板表面に対し平行に振動するように偏光板を挿した。蛍光は、背景光となる反射した励起光の振動方向と直交する振動の光のみを検出できるように設計した。これらにより、背景光を抑制しつつ高い蛍光増強が得られる光学装置を試作した。この装置と基板を用いてRhodamineBの蛍光強度を測定した結果、蛍光が11倍増強しノイズシグナルが1/10倍まで減少することがわかった。すなわちこの結果より、本装置を用いることで、コントラストの指標となるS/N比が110倍向上できるとわかった。また、タンパク質検出のモデル実験として、作製した積層構造基板にビオチンを固定化しCy3標識のアビジンを検出することを試みた。ビオチンは、積層構造基板表面をアミノ基で修飾し、その後、NHSで活性化したビオチンを滴下することで固定化した。非特異的な吸着を抑制するために、BSAによるブロッキングを行った。この方法によりCy3標識のアビジンを測定したところ、蛍光シグナルが3倍増強し、ノイズシグナルが1/8倍に減少した。この結果より、アビジンの検出においてS/N比が24倍高くなることが示された。

10. キーワード

(1) 蛍光	(2) 偏光	(3) 誘電体	(4) 干渉
(5)	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

市販の蛍光顕微鏡を改造し汎用性を高めた装置を用いた場合でも、S/N比が100倍程度向上することが示された。このため、おおむね順調に進展していると判断した。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

蛍光検出装置の性能を向上させる試みを継続するとともに、抗原抗体反応を用いてタンパク質の検出を行う。

(次年度の研究費の使用計画)

タンパク質の検出を行う実験が予定よりもやや遅れたため、タンパク質などを購入するための費用に繰越金が発生した。次年度は、装置に組み込む偏光板などについて改めて性能などを吟味するとともに、抗原や抗体などのタンパク質試薬の購入を行う。また研究成果の発表のための旅費として使用する。

13.研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(1)件 うち査読付論文 計(1)件

著者名		論文標題【掲載確定】			
M. Yasuda and T. Akimoto		Highly Sensitive Fluorescence Detection of Avidin/Streptavidin with an Optical Interference Mirror Slide			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Analytical Sciences	有	28	2012	947-952	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
なし					

〔学会発表〕計(2)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題【発表確定】	
M. Yasuda and T. Akimoto		High contrast fluorescence imaging of biomolecules using an optical interference mirror	
学会等名	発表年月日	発表場所	
22nd Anniversary World Congress on Biosensors	2012年05月15日～2012年05月18日	Cancun, Mexico	

発表者名		発表標題【発表確定】	
安田充, 秋元卓央		薄膜干渉基板における蛍光増強の偏光依存性を利用した生体分子の高コントラスト蛍光イメージング	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本化学会	2013年03月22日～2013年03月25日	立命館大学(滋賀県)	

(図書) 計(0)件

著者名	出版社			
書名			発行年	総ページ数

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

--