

課題番号 : F-18-NM-0080  
 利用形態 : 技術代行  
 利用課題名(日本語) : 楕型電極ミオグロビンバイオセンサの再生技術の探索  
 ProgramTitle(English) : Exploration of regeneration technique for myoglobin biosensor based on interdigitated electrodes  
 利用者名(日本語) : 大貫等  
 Username(English) : H. Ohnuki  
 所属名(日本語) : 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科  
 Affiliation(English) : Tokyo University of Marine Science and Technology  
 キーワード/Keyword : バイオ&ライフサイエンス、リソグラフィ・露光・描画装置、バイオセンサ、抗原抗体反応

### 1. 概要(Summary)

これまでの研究で高感度かつ高い選択性を持つミオグロビンバイオセンサの開発に成功した。しかし、開発したセンサは再利用できないという問題点があった。そこで、本研究では再生可能なセンサの開発をすべく Protein G'に着目し、センサの再生を試みた。Protein G'は IgG 抗体と特異結合するタンパク質である。中性溶液中でこの結合は維持されるが、酸性溶液中ではその結合を絶つ特性を持つ。この特性を利用し、Protein G'を介して抗ミオグロビン抗体(IgG 抗体)を固定した試料を作製した。再生時には酸性溶液中で抗ミオグロビン抗体を Protein G'から脱離させ、新たな抗体を固定することでセンサの再生を行った。なお、酸性溶液はグリシン溶液を使用した。

### 2. 実験(Experimental)

テンパックス基板上に幅 10 μm、長さ 7 mm の Au 電極を間隔 50 μm で交互に配置した楕形電極の作製を NIMS 微細加工 PF の技術代行により依頼した。使用装置は以下の通りである。

【利用した主な装置】(NIMS 微細加工 PF)

・全自動スパッタ装置、高速マスクレス露光装置、ダイシングソー、3次元測定レーザー顕微鏡

【実験方法】(東京海洋大学)

作製した Au 楕型電極表面に 11-mercaptopundecanoic acid と 6-mercaptohexanol の混合 SAM を形成した。形成後、表面の COOH 末端を EDC/NHS 溶液で活性化した後、Protein G'溶液中に 20 分間浸漬し、トリエチレンジルコールモノアミン溶液でブロッキングすることで Protein G'表面とした。最後に抗ミオグロビン抗体溶液に 2 時間浸漬して抗ミオグロビン抗体の配向固定化試料を作製した。EIS 測定は振幅電圧 10 mV、周波数 0.1~100 kHz の正弦波電圧を印加し、5 mM の [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-/4-</sup>を含む緩衝溶液中で行った。測定

を終えた基板をグリシン溶液 (0.2M、pH2.5) に浸漬させ、基板上の抗ミオグロビン抗体を脱離させた後、新たな抗ミオグロビン抗体を再固定した。

### 3. 結果と考察(Results and Discussion)

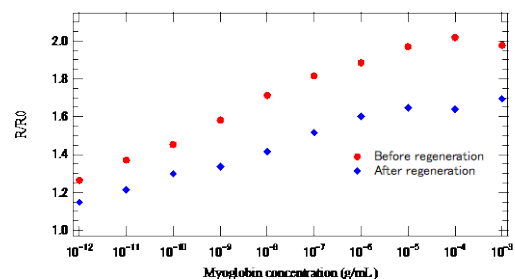


Fig.1 Sensor characteristics

再生前後のセンサ特性を Fig. 1 に示す。横軸にミオグロビン濃度、縦軸にミオグロビンと反応していない電極を基準としたときのインピーダンスの上昇率を示している。再生前のセンサ特性ではミオグロビン濃度に対して上昇率が線形的に上昇し、10 ng/mL 以降で変化が止む。再生後のセンサ特性は再生前のセンサ特性と同様のふるまいを示すことが確認できた。この結果はグリシン溶液で抗体を脱離させ、新たな抗体を再固定することで再生前と同様のセンサを作成することが可能であることを示唆している。しかし、再生前より低いセンサ特性を示している点については、グリシン溶液による Protein G'の変性が示唆される。そのため、再生時でのグリシン浸漬条件(濃度、浸漬温度、浸漬時間)の最適化を施すことでセンサ特性の劣化を抑えることができると期待される。

### 4. その他・特記事項(Others)

競争的資金: JSPS 科研費 16K04928

### 5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

・卒業論文 楕型電極ミオグロビンバイオセンサの再生技術の探索 藤城志遥 (東京海洋大学)

### 6. 関連特許(Patent)

なし