

山下 馨 教授

■キーワード

センサ 電気化学センサ 漏れ電流 インピーダンス リポソーム タンパク質 集積電子デバイス

■研究の概要

人工細胞膜モデルであるリポソームは、タンパク質等重要な生体分子と相互作用することが知られており、この相互作用の発現を利用して、対象となる生体分子の検知・識別や、その生体分子の状態を知ることが出来ると考えられています。リポソームは相互作用により膜攪乱が生じ、リポソーム内包物質の漏洩が起こります。リポソームに電解質を封入し、膜攪乱による電解質の漏出による漏れ電流を測定することで、リポソームと生体分子との相互作用を検知することができます(図1)。また、インピーダンス測定により相互作用の検知の可能性を模索しました。

本研究では、表面バルクMEMSプロセスによるSiウエハを用いた漏れ電流センサの作製を行いました。相互作用に伴う電解質の漏出を微量かつ簡易に測定することが現在マイクロレイ化の観点で望まれており、今回作製したセンサは14mm角のSi基板に液溜め用のキャビティを設け、スパッタリングによってPt電極を製膜したものです。測定体積は数μLであり、従来の電気化学的測定とは異なり、微量液滴による測定が可能となりました。

最終的に、漏れ電流マイクロレイセンサを作製、数μLの微量液滴による測定を可能とし、漏れ電流測定では滴下タンパク質濃度に依存したリポソーム内包導電分子による漏れ電流を測定できました。さらに溶液体積とタンパク質変性剤GuHCl濃度依存の漏れ電流を評価しました。これによりリポソーム-タンパク質間相互作用強度を定量的に評価できる可能性が示唆されました。インピーダンス測定では相互作用の有無により特に高周波(1MHz)領域でインピーダンスに相異が生じ、同相互作用によるリポソームの状態・形状変化により溶液インピーダンスが変化することが示唆されました。

■研究・技術のプロセス/研究事例

(測定原理)

図2に示すようにリポソームに電解質である $K_4[Fe(CN)_6]$ (フェロシアン化カリウム) を内包させ、リポソームにタンパク質等を相互作用させることで、リポソームの膜攪乱が発生し、リポソーム球殻内封入物の漏出が生じます。この時漏洩した鉄イオン Fe^{2+} は(1)の反応を起こします。



この Fe^{2+} の酸化反応により放出された電子が電極に到達することにより電流が流れます。この時流れる電流(漏れ電流)はリポソームから漏出した $K_4[Fe(CN)_6]$ の量に依存するため、漏れ電流を測定することで、タンパク質とリポソームの相互作用の程度を検出することができます。

測定には、測定する系にかかる電位を変化させ、応答して変化する電流を計測して解析するボルタノメトリー法のうち、一定(直流)電圧を用いるDCアンペロメトリー法と、電位をある一定値からある瞬間に別の値へと変化させ保持し、その際の電流-時間特性(過渡応答)を測定するクロノアンペロメトリー法を用いました。これらは簡便な装置で済むため多くの用途で用いられています。

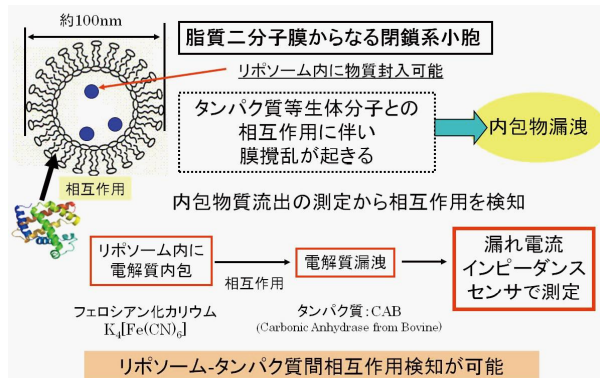


図1. 電解質封入リポソーム分子

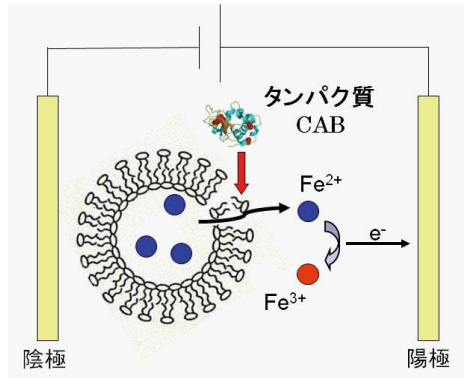


図2. 漏れ電流測定原理図

■セールスポイント

リポソームとの相互作用による物理化学因子の変化を検出し、タンパク質等バイオ分子の検知・識別、同分子の物理的・化学的状態を検出します。簡易で短時間測定可能、装置側での高価なバイオ材料が不要。

新検知原理リポソームバイオセンサ①
リポソームとの相互作用利用電気化学マイクロセンサ①