28p-G17-12

## NiCr 薄膜歪ゲージマイクロカンチレバーセンサを用いた

## リポソーム - タンパク質間相互作用検出

Detection of Interaction between Biological Proteins and Immobilized Liposomes by a Micro-Cantilever Sensor with NiCr Thin Film Strain Gauge 京工繊工芸<sup>1</sup>, 阪大院基礎工<sup>2</sup> <sup>0</sup>藤本 貴士<sup>1</sup>, 寒川 雅之<sup>2</sup>, 高田 佳祐<sup>1</sup>, 山下 馨<sup>1</sup>, 野田 実<sup>1</sup> Kyoto Inst. Tech.<sup>1</sup>, Osaka Univ.<sup>2</sup> <sup>o</sup>T. Fujimoto<sup>1</sup>, M. Sohgawa<sup>2</sup>, K. Takada<sup>1</sup>, K. Yamashita<sup>1</sup>, M. Noda<sup>1</sup> E-mail:b9121051@edu.kit.ac.jp

近年、高感度マイクロカンチレバーセンサの応用が注目を集めている。これまで筆者らは触覚センサ用に NiCr 薄膜歪ゲージを用 いたマイクロカンチレバーを作製してきた[1]。これは静的検出のため、振動検出に比べて構造が簡単という特長がある[2]。一方で バイオ分子センシングは広く行われており、一例としてアルツハイマー症原因物質の一つと考えられているアミロイドβ蛋白質は 重要なバイオターゲットである。本研究では、自己組織化単分子膜(SAM)をマイクロカンチレバー上に形成し、リポソームを固 定化した表面でバイオ分子を吸着させ、それによるカンチレバー撓みの変化の測定を行なった。試作したマイクロカンチレバーの 断面構造を Fig.1 に示す。今回 SOI ウェハを基板として Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>, NiCr, Au, サイトップ(旭硝子)の順に成膜、パターニングの後、 緩衝フッ酸溶液に液浸させ、酸化膜層の犠牲層エッチングを行った。カンチレバー(長さ/幅/厚み=360 µ m/220 µ m/2.5 µ m)の先端 は基板から約 40μmの高さにある。Au 膜形成後、カンチレバー上にリポソーム固定化用 SAM を形成するために、16-メルカプト ヘキサデカン酸に浸漬した。さらに、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩および N-ヒドロキシコハク酸 イミドを溶質、1,4・ジオキサンと水を混合溶媒とする水溶液中に液浸し、SAM 膜表面のカルボキシル基の活性化を行った。カンチ レバーをジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)とホスファチジルエタノールアミン(PE)のリポソーム(直径:~100 nm)混 合溶液に浸漬することによってリポソームを表面上に固定化した。Fig.2 は空気中、純水液滴中、および炭酸脱水酵素(CAB) (300 μ M)水溶液液滴中でのカンチレバー上歪ゲージの抵抗変化率( 2R/Ro, Ro=4.5 kΩ)の時間依存性を示している。液滴はカン チレバー構造全体をカバーしていることを顕微鏡観察により確認している。抵抗値は空気と純水で経時的にほぼ安定している。こ れとは対照的に、CAB 溶液中では抵抗は時間の経過とともに増加している。CAB 分子が物理的にカンチレバー上堆積し、重量増 加により下方に撓んだ結果だと考えられる。次に SAM 膜上リポソーム固定化後、アミロイドβ(1-42)タンパク質(50μM)水溶液中 での経時変化を 1500 秒間測定した。Αβの場合、最初の 200 秒まで抵抗値が上昇しその後徐々に減少した。前者の上昇は前述の CABの場合と同様に、カンチレバー上にAβ分子が吸着したことによる重量増加と考えられるが、増加後の抵抗低下の原因は現時 点で明確ではない。一つの仮説として、以前のマイクロボロメーター[3]を用いた測定にて A β は線維成長[4]開始後(Fig.3)に吸熱反 応を起こすという結果が得られているため、今回も吸熱反応による熱歪みでカンチレバーが上方に撓んだのではないかと考えられ る。マイクロカンチレバーセンサによる静的検出はバイオタンパク質検出にも有用であり、今回固定化リポソームとターゲットタ ンパク質との相互作用の検出に成功したと考えている。



謝辞: SAM処理プロセスをご指導並びに実施させて頂きました大阪大学大学院基礎工学研究科馬越先生に感謝いたします。 本研究の一部は科研基盤B(一般) 19360162, 22360144 の助成を受けて行われた。

参考文献:[1] M. Sohgawa *et al.*, "Tactile sensor array using microcantilever with nickel-chromium alloy thin film of low temperature Coefficient of resistance and its application to slippage detection", *Sens. Actuators A*, **186**, 2-7, 2012.

[2] S.-J. Hyun *et al.*, "Mechanical detection of liposomes using piezoresistive cantilever", Sens. Actuators B, **117**, 415-419, 2006.
[3] M. Noda *et al.*, "A Sensitive Thermochemical Detector with a New Target Droplet Supply and Immobilization Process", *Sens. Actuators B*, **147**, 337-342, 2010.

[4] A. Kakio et al., "Interaction between amyloidβ-protein aggregates and membranes", J. Peptide Sci., 10, 612-621, 2004.