28p-G17-3

酵素活性イオンセンシングに向けた一方向固定酵素ゲートトランジスタの創製

Directionally immobilized enzyme-coupled gate transistor for ion sensing based on enzyme activity

東京大学工学部 [1]，東京大学大学院工学系研究科 [2]，日立中央研究所 [3]
○田伏 佑規 [1]，宮澤 雄弥 [2]，西田 洋一 [3]，坂田 利弥 [1,2]
Faculty of Engineering, Univ. of Tokyo[1], School of Engineering, Univ. of Tokyo[2],
Central Research Lab. Hitachi Ltd.[3]
○Y. Tabuse[1], Y. Miyazawa[2], H. Nishida[3], T. Sakata[1,2]
sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

1. 緒言

近年、創薬、診断医療、食品、環境など多岐にわたる分野で、酵素、抗体などの分子識別機能を利用したバイオセンサの開発がなされている。酵素を基板上に固定化する際、活性部位と無関係に固定化させては、検出感度や反応部位の量的な制御が困難である。本研究では、酵素反応をセンサ基板上で効率的に計測可能な一方向固定酵素を作製し、我々の研究グループがこれまで進めてきた半導体バイオセンシングへの応用を調査する。一方向固定酵素とは酵素本体の末端に基板と特異的に結合する 5～10 残基ほどのペプチドからなる Tag を設けたもので、Tag を変えることで様々な基板への特異的な固定化が可能である。

2. 実験方法

半導体バイオセンシング技術は電界効果型トランジスタ（Field Effect Transistor; FET）を基板とし、イオンや分子固有の電荷を非標識で計測できる。特にゲート電極を伸長した Extended-gate 型 FET は、そのゲート電極の材料や形状を自由に選択することができる。本研究では非毒性、生体適合性などの利点を有する最表面が TiO_2 となる Ti(/TiO_2)をゲート電極として用いた。一方、これまでファージディスプレイ法により TiO_2 と親和性の高いペプチドが RKLPDA のアミノ酸配列を有すことが明らかにされている[1]。本研究では、RKLPDA の Tag 付き DNA ポリメラーゼ（RKLPDA-Pol）を我々の研究グループにより新たに作製し、ゲート電極となる Ti/TiO_2 基板への一方向固定とその酵素機能の計測を行った。

RKLPDA-Pol の作製には、プラスミド DNA を用いた大腸菌の形質転換により行った。Ti/TiO_2 基板への特異吸着の計測には、FET および QCM(Quarts Crystal Microbalance; 水晶振動子マイクロバランス)により、作製した RKLPDA-Pol の Ti/TiO_2 基板への吸着を確認した。

3. 実験結果

Extended-gate FET のゲート電極に Ti/TiO_2 を用い、作製した RKLPDA-Pol の吸着特性の計測を試みた。その結果、異種配列 Tag-Pol では見られなかった負電荷の吸着に起因した大きな電気的変化が本研究により初めて確認された。また、QCM を用いても同様に、作製した RKLPDA-Pol の Ti/TiO_2 基板への特異的な固定化が確認できた。今後は、RKLPDA-Pol を Ti/TiO_2 基板へ一方向固定し、イオン固有の電荷に基づく非標識 DNA 伸長反応の計測、さらには非標識 DNA シーケンシングへの応用を検討していく。

(参考文献)

1. Ken-Ichi Sano and Kiyotaka Shiba , JACS,2003,125(47),14234-14235.

(謝辞) 本研究の一部は JST CREST の支援を受けた成果である。

© 2013 年　応用物理学会