

29p-G17-10

# 蛍光分子封入リポソームを用いた新規な微細アレイ

## 蛋白質センサデバイスとその経時特性解析

A New Protein Sensor Utilizing Liposome Encapsulating Fluorescent Molecules  
with Miniaturized Array Approach and Time Course Analysis

京工織工芸<sup>1</sup>, 阪大院基礎工<sup>2</sup>, 岡山大<sup>3</sup>

○藤本 貴士<sup>1</sup>, 島内 寿徳<sup>2,3</sup>, 福澤 理行<sup>1</sup>, 高田 佳祐<sup>1</sup>, 山下 馨<sup>1</sup>, 馬越 大<sup>2</sup>, 野田 実<sup>1</sup>

Kyoto Inst. Tech.<sup>1</sup>, Osaka Univ.<sup>2</sup>, Okayama Univ.<sup>3</sup>

○T. Fujimoto<sup>1</sup>, T. Shimanouchi<sup>2,3</sup>, M. Fukuzawa<sup>1</sup>, K. Takada<sup>1</sup>, K. Yamashita<sup>1</sup>, H. Umakoshi<sup>2</sup>, M. Noda<sup>1</sup>

E-mail:b9121051@edu.kit.ac.jp

バイオ化学反応の定量的評価手法として光学系を用いた光強度センシングが種々検討されている。従来より我々の一部はカルセイン蛍光分子封入リポソームを用いて蛍光物質の漏出を光学的に測定してきた[1][2]。それらの研究では固定化されたリポソームと非固定のリポソームとの相互作用を検出していた。一方、 $\mu$  TAS (Micro-Total-Analysis-Systems)の急速な発展によりマイクロ流路構造を駆使したマイクロセンサ上へのバイオ溶液の供給が可能となってきた。そこで今回我々は流路構造への適応を可能とするリポソーム非固定状態でのバイオ分子との相互作用の検出および、 $\mu$  TAS へ組み込み可能な微細アレイ化を検討した。微細化したアレイの構造を Fig.1 に示す。ガラス基板上にアレイ状に加工した PDMS をシリコン系接着剤で固定している。アレイの形状は  $700\mu\text{m} \times 700\mu\text{m}$  の正方形のセルが  $700\mu\text{m}$  間隔で縦横 3 つずつ並んだ状態である。ここに半自動マイクロディスペンサーを用いて蛍光分子封入リポソーム溶液を  $0.3\mu\text{L}$ 、ターゲット溶液 (超純水、ウシ炭酸脱水酵素(CAB)、リゾチーム) を  $0.3\mu\text{L}$  導入し、その後揮発防止の為にカバーガラスでアレイを覆い、1 時間の経時変化を測定した。測定系として、青色 LED の光をフィルタリングした上で励起光として利用し、CCD カメラにて蛍光強度を計測する系を新たに開発した。その模式図を Fig.2 に示す。入力された映像は順次画像ファイルとして保存され、各セル内の RGB 強度を同時に取得できるように設計した。蛍光分子封入リポソームの濃度は  $30\text{mM}$  で、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC)、ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン (POPC) の三種類を用意した。封入する蛍光分子としては  $100\text{mM}$  のカルセイン溶液を用いた。検出対象の蛋白質は  $350\mu\text{M}$  の CAB、 $710\mu\text{M}$  のリゾチームを用い、共にグアニジン塩酸塩  $1\text{M}$  の水溶液中に導入しそれらの蛋白質を変性させた上でターゲットとして利用した。DPPC における検出結果を Fig.3 に示す。水、CAB、リゾチームの経時変化特性が異なる事がわかる。カルセイン蛍光分子封入リポソームを利用したセンサデバイスと測定系の開発、並びに微細アレイ化による並列的計測を達成できたと考えている。

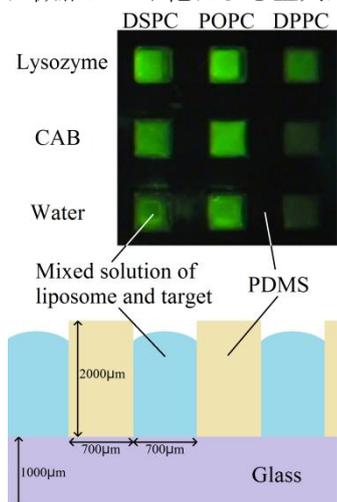


Fig. 1. Structure of liposome array sensor chip.

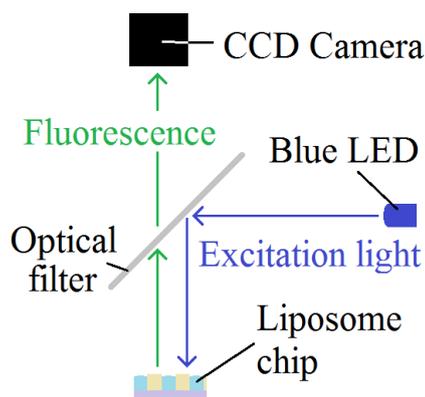


Fig. 2. Photometric system for liposome chip.

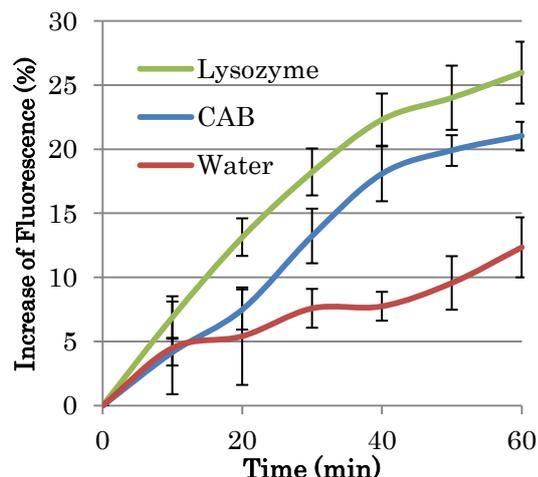


Fig. 3. Time course of fluorescence increase in the array of DPPC liposome.

謝辞: 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] T. Shimanouchi, E. Oyama, H. Ishii, H. Umakoshi, R. Kuboi, "Membranomics Research on Interactions between Liposome Membranes with Membrane Chip Analysis", MEMBRANE, vol. 34, pp. 1-9, (2009).

[2] T. Shimanouchi, E. Oyama, H. Thi Vu, H. Ishii, H. Umakoshi, R. Kuboi, "Monitoring of membrane damages by dialysis treatment: Study with membrane chip analysis", Desalination and Water Treatment, www.deswater.com, pp. 45-51, (2010).