

# GABA とグルタミン酸のイメージングに向けた酵素固定化膜センサの製作

## Fabrication of Sensor with Enzyme-Immobilized Membrane for GABA and Glutamate Imaging

豊技大<sup>1</sup>、JST-CREST<sup>2</sup> °水谷 信哉<sup>1,2</sup>、堀尾 智子<sup>1</sup>、奥村 弘一<sup>1,2</sup>、  
石田 誠<sup>1</sup>、澤田 和明<sup>1,2</sup>

Toyohashi Univ. of Tech<sup>1</sup>, JST-CREST<sup>2</sup> °S. Mizutani<sup>1,2</sup>, T. Horio<sup>1</sup>, K. Okumura<sup>1,2</sup>,  
M. Ishida<sup>1</sup>, K. Sawada<sup>1,2</sup>

E-mail: mizutani-s@int.ee.tut.ac.jp

$\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) は抑制性神経伝達物質として、グルタミン酸は興奮性神経伝達物質として脳機能の重要な役割を担っている。これまで、本研究室では pH イメージセンサと測定対象に特異的な酵素機能膜を組み合わせることにより、神経伝達物質であるアセチルコリン及び ATP を検出するイメージセンサ<sup>[1][2]</sup>を開発し、報告してきた。さらに、GABA 及びグルタミン酸をイメージングするための酵素機能膜センサの開発を目指し、検討を開始した。

GABA 及びグルタミン酸は特異的な酸化酵素により、アンモニア (NH<sub>3</sub>) 及び過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) を生成する。この酸化酵素により生成する NH<sub>3</sub> を対象に溶液中の pH 変化として検出することで GABA 及びグルタミン酸をイメージすることが原理的に可能となる。今回は、この基礎検討として代表的 NH<sub>3</sub> 生成酵素である尿素分解酵素 (Urease) を使用し、基質である尿素 (Urea) の分解により生じる NH<sub>3</sub> を pH 変化として検出するセンサを製作し、イメージセンサとしての検討を行ったので報告する。

作製した Urea を検出するイメージセンサの構造を図1に示す。本研究では 128×128 画素の電荷転送型 pH イメージセンサを用いた<sup>[1]</sup>。本イメージセンサは、Urease をポリイオンコンプレックス内に包摂し、pH イメージセンサ上に成膜した。成膜方法を次に示す。まず、キトサン溶液 (20  $\mu$ l) を pH イメージセンサ上に滴下し 4°C で一晩乾燥させる。次に、60 mM PSS 溶液 (10  $\mu$ l)、Urease 溶液 (100 unit / 10  $\mu$ l)、75 mM PLL 溶液 (10  $\mu$ l) の混合液をセンサ上に滴下し 4°C で一晩乾燥させた。

製作したイメージセンサを用いて尿素的拡散を予備的に検討した結果を図2に示す。濃度の異なる尿素溶液の拡散を濃度依存的な pH 変化として捉えることが出来たが、膜の均一性に課題があることが判明した。これより、製作したイメージセンサにより NH<sub>3</sub> の拡散をイメージングできる可能性があることが示唆された。今後は、濃度依存性の評価及び膜組成の最適化を実施する予定である。

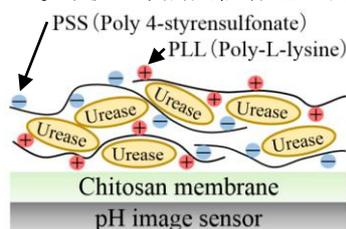


図1 イメージセンサの構造

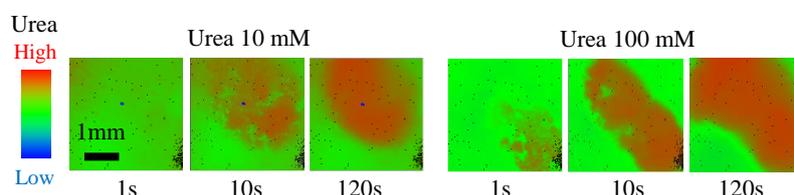


図2 Urea のイメージング

- [1] 武永祥子ら、“神経伝達物質イメージングに向けた2次元ラベルフリーアセチルコリンセンサ”、応用物理学関係連合講演会、第56回、30a-ZL-9、2009
- [2] 土井英生ら、“ポリイオンコンプレックスを用いた非標識 ATP イメージセンサの製作”、応用物理学会春季学術講演会、第62回、11a-D6-9、2015
- [3] F. Dasai et al., “A 128×128 pixels charge transfer type pH and photo image sensor with high density and high frame rate”, Proc. APCOT2012, ac. 12000201, 2012