

## 厚さを制御したナノ空間における生体分子検出

### Detecting biomolecules in a nanometric gap structure with controlled thickness

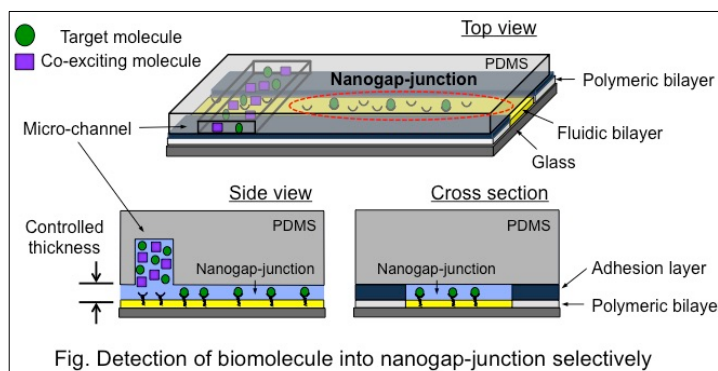
神戸大農<sup>1</sup>, 神戸大バイオシグナル<sup>2</sup> ○(M2) 田邊 真志<sup>1</sup>, (D) 安藤 公二<sup>1</sup>, 森垣 憲一<sup>2</sup>

Kobe Univ.<sup>1</sup>, Kobe Univ. Biosignal<sup>2</sup>, ○Masashi Tanabe<sup>1</sup>, Koji Ando<sup>1</sup>, Kenichi Morigaki<sup>2</sup>

E-mail: 150a513a@stu.kobe-u.ac.jp

《緒言》 生体分子の超高感度検出を目的として、人工生体膜表面に任意の厚さを持つナノ空間を作製した。我々は流動性脂質膜とポリマー脂質膜を併せ持つパターン化人工生体膜（パターン化膜）を確立してきた。本研究では、夾雑分子を含む溶液から特定分子を高感度に検出するために、厚さが数十～百 nm の接着材料を介してパターン化膜と高分子エラストマー (Polydimethylsiloxane; PDMS) を接着し、流動性膜部分にナノ空間（ナノギャップ構造）を作製した。接着材料には均一な粒径を持つ、シリカナノ粒子（粒径：30～200nm）を用いた。ナノ空間を薄くすることにより、混合溶液中から特定分子をより高感度に検出できるという仮説を検証した。

《方法》 光重合性脂質を用いてパターン化膜の作製し、ポリマー脂質膜表面にビオチン基を結合した。シリカナノ粒子はビオチン基を含む脂質膜で被覆し、ストレプトアビジン-ビオチン結合でパターン化膜の表面に固定化した。シリカナノ粒子を介して、パターン化膜と PDMS を接合した。



《結果》 粒径が 30nm と 100nm のシリカナノ粒子を用いて、ナノギャップ構造を作製し、ギャップ厚さと分子検出感度を比較した。厚さは、ナノギャップ構造と PDMS の段差における蛍光強度の比から評価した。表面に一定高さの段差を持った PDMS をパターン化膜と接合した。蛍光色素の比率から、100nm シリカでは 30nm シリカと比較して厚さが約 2 倍となった。分子検出感度は、標的タンパク質(コレラ毒素・サブユニット B: CTB)と、夾雑タンパク質(牛血清アルブミン: BSA)を用いて検討した。混合溶液をマイクロ流路に導入し、ナノギャップ構造における流動性膜領域とポリマー膜領域の蛍光値をシグナル／ノイズ比 (S/N 比) として比較した。糖鎖脂質 (G<sub>M1</sub>) を含む流動性膜が CTB を捕捉し、ナノギャップ構造内へと輸送した。ナノギャップ構造の厚みが薄い程 CTB の選択性が上がり、30nm シリカナノ粒子を用いた方では 100nm シリカナノ粒子と比較して S/N 比の値が 2~3 倍大きくなった。

《まとめと今後の展望》 接着材料の厚みによって、ナノギャップ構造の厚み制御が可能であり、ナノギャップ構造が薄いほど、分子検出感度が高くなることが示された。今後は、ナノギャップ構造を用いた 1 分子計測を実現するとともに、膜タンパク質などの脂質に直接結合する分子を検出できるバイオチップの開発を目指す。そのために接着材料の改良し、接着層への非特異吸着を抑制することが課題である。