

ATP イメージセンサの出力特性に及ぼす酵素膜組成の影響

Influence of the volume of membrane on the output response of enzyme functionalized potentiometric sensor arrays for ATP imaging

豊橋技科大, °土井 英生, 堀尾 智子, 岩田 達哉, 奥村 弘一,
服部 敏明, 石田 誠, 澤田 和明

°Toyohashi Univ of Tech, °H. Doi, T. Horio, T. Iwata, K. Okumura,

T. Hattori, M. Ishida and K. Sawada

E-mail: doi-h@int.ee.tut.ac.jp

アデノシン三リン酸 (ATP) はプリン作動性経系において刺激応答によって細胞外へ放出される神経伝達物質として注目されている^[1]。これまでに、本研究室ではポリイオンコンプレックス (PIC) 法を用いた ATP イメージセンサを製作し、ATP の拡散イメージングに成功している^[2]。今回は PIC 組成と酵素量の異なる二種類の ATP イメージセンサを製作し、センサの出力応答と検出限界を検討したので報告する。

酵素膜は ATP 分解酵素であるアピラーゼを PIC 内に包括固定し、イメージセンサ上へ成膜した。本研究では密着層のキトサン膜を介する二種類の酵素膜をドロップキャスト法で製作した^[2]。表 1 に、二種類の酵素膜の組成 (#1, #2) を示す。膜中のアピラーゼ量が 24 unit と 16 unit の場合、#1 の酵素膜は #2 より 1/2 程度の容積となる。

図 1 に、ATP 100 μM 添加時のセンサ出力の経時変化を示す。同図より、#1 のセンサ出力は ATP 添加直後から変化が認められるが、#2 のセンサ出力は ATP 添加後、70 s 後から徐々に変化することがわかる。反応初速度 ΔV ($\partial\Delta V/\partial t$) を図 1 より評価した結果はそれぞれ #1 ; 0.2 mV/s, #2 ; 0.002 mV/s であった。これは #1 は #2 の膜組成より膜厚が薄いため、ATP 及び H^+ の膜中への拡散が促進されたことによると考えられる。また、#1 のセンサ出力は ATP 100 μM から 10 mM にかけて直線的に変化 (感度 : 22.5 mV/decade) し、30 μM の最低検出濃度を達成した。これらのことから、#1 は生体組織からの ATP 放出を高感度に捕えることが可能であると考えられる。

表 1. 酵素膜の詳細

	Chitosan (μL)	PSS (μL)	PLL (μL)	Apyrase (unit)
#1	10	10 (25 mM)	10 (20 mM)	24
#2	20	20 (75 mM)	20 (60 mM)	16

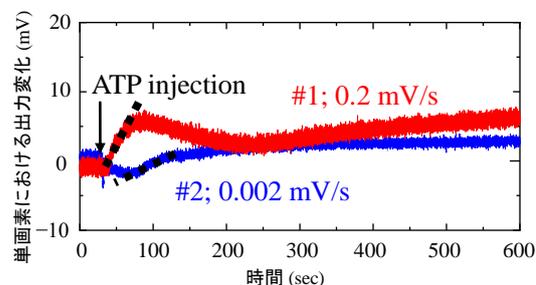


図 1. 単画素における出力変化 (ATP 100 μM)

謝辞

本研究は、JST, CRESTの支援を受けたものである。

[1] S. Koizumi, K. Fujishita, M. Tsuda, Y. Shigemoto and K. Inoue: *PNAS*, **100**, 11023 (2003).

[2] H. Doi, T. Horio, K. Okumura, T. Hattori, M. Ishida and K. Sawada: *Transducers 2015*, 1577 (2015).