

# リポソーム固定化水晶振動子マイクロバランス (QCM) 法を用いた生体タンパク質の検出

## Detection of Biological Proteins Using Quartz Crystal Microbalance (QCM) with Immobilized Liposomes

京都工芸繊維大学

○尾淵 浩也, 村上 祐樹, 西本 凌, 谷口 智哉, 山下 馨, 野田 実  
Kyoto Inst. Tech.<sup>1</sup>

○H. Obuchi, Y. Murakami, R. Nishimoto, T. Taniguchi, K. Yamashita, M. Noda  
E-mail: b3121501@edu.kit.ac.jp

【はじめに】

近年、簡易診断技術を一層向上、進展させるために、重要疾患原因タンパク質を高感度にセンシング可能なセンサの開発が指向され、開発が進められている。その有力手法の一例としてセンシングバイオ分子を固定化したカンチレバーバイオセンサの研究が挙げられる[1]。カンチレバーセンサ以外にセンシングバイオ分子としてリポソームを用いた力学センサとして、高感度動的検出手法である水晶振動子マイクロバランス (QCM) がある[2]。本研究では、リポソーム固定化 QCM センサにより生体タンパク質の検出を行い、リポソーム固定化カンチレバーセンサによる検出特性との比較を行うことを目的とした。

【実験内容と結果】

Fig. 1 (a) にQCMセンサーセル、(b) に水晶振動子 (AT-cut、基本振動数27 MHz、initium社製) のAu電極表面にリポソームをSAMを介して固定化したQCMセンサの断面構造概要を示す。16-メルカプトヘキサデカン酸をエタノールに溶解して同溶液をAu電極表面に滴下して静置することで自己組織化単分子膜(SAM)を形成した。その後、EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide Hydrochloride) およびNHS (N-Hydroxysuccinimide) 混合水溶液を滴下してSAMのカルボキシル基を活性化した。その後カルボキシル基を活性化したSAMを用いてPE(L- $\alpha$ -phosphatidylethanolamine) を1 wt%添加したDPPC(1,2-Dihexadecanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine) リポソームを同Au電極表面に固定化した。なお固定化したリポソームはエクストルージョン法にて粒径を約100 nmに調製している。

次に、リポソーム固定化QCMセンサにターゲットタンパク質としてリゾチーム水溶液 (800  $\mu$ M) を導入した。25  $^{\circ}$ C一定、1000 rpm攪拌下で測定している。リゾチーム溶液のDPPCリポソーム固定化QCMセンサによる測定とカンチレバーセンサによる測定[3]を比較した結果をFig. 2に示す。QCMセンサからは、リゾチーム導入後経時的に共振周波数の減少がみられた。また周波数変化は約7 kHzであり、その理論式から吸着密度は約43 ng/mm<sup>2</sup>であることが分かった。以上の結果から、リポソーム固定化QCMセンサが同タンパク質をセンシングできるバイオセンサとして動作し、経時特性はカンチレバーセンサによる検出結果とほぼ同じ傾向であることが明らかとなった。

(謝辞) 本研究の一部は科研基盤 A(一般)25249048、挑戦的萌芽研究 26630157 の助成を受けて行われた。

【参考文献】

[1] 村上祐樹 他:2016 秋応物 15a-B8-3 [2] Thi Huong Vu *et al.*:J COLLOID INTERFACE SCI, 2009, 336, 902-907 [3] Z. Zhang *et al.*: SSDM, 2015, F-3-3

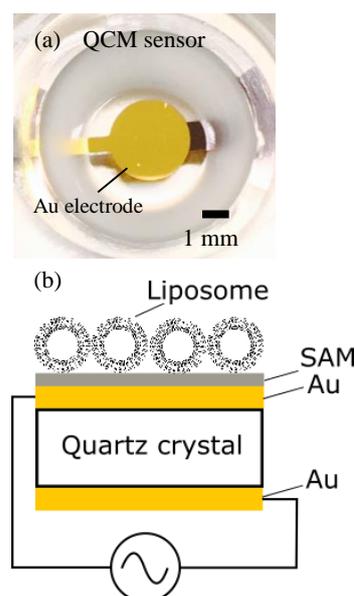


Fig. 1: (a) A photo of the QCM sensor and (b) a cross-sectional illustration of the QCM sensor immobilized with liposome.

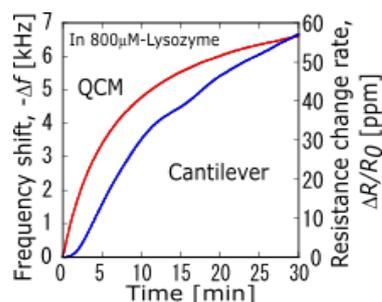


Fig. 2: Time course of frequency shift of the QCM sensor and resistance change rate of the micro-cantilever sensor after adding Lysozyme (800  $\mu$ M).