

櫛型電極ミオグロビンバイオセンサの再生技術の探索

Exploration of Regeneration Technique for Myoglobin Biosensor using Interdigitated Electrodes

東京海洋大学¹, NIMS² ○藤城志遥¹, 大貫等¹, 津谷大樹², 呉海云¹, 遠藤英明¹

Tokyo Univ. of Marine Sci. & Tech.¹, National Institute for Materials Science²

°S. Fujishiro¹, H. Ohnuki¹, D. Tsuya², H. Wu¹, H. Endo¹

E-mail: t152057@edu.kaiyodai.ac.jp

【はじめに】

我々は電気化学インピーダンス法を用いてミオグロビンバイオセンサの開発を行ってきた。これまでの研究で高感度かつ高い選択性を持つセンサの開発に成功した。しかし、開発したセンサは一度測定に用いたら再利用できないという問題があった。それにより、センサの作製にかかる費用や時間のコストがこのセンサのデメリットとして挙げられる。

そこで、我々は再生可能なセンサの開発をすべくセンサの再生を試みた。センサの再生を行うにあたり、Protein G'に着目した。Protein G'はIgG抗体と強く結合するタンパク質である一方、酸性溶液中でその結合を絶つ特性を持つ。この特性を利用し、Protein G'を介して抗ミオグロビン抗体 (IgG抗体) を固定した試料を作製した。再生時には酸性溶液中で抗ミオグロビン抗体をProtein G'から脱離させ、新たな抗体を固定することでセンサの再生を行った。なお、酸性溶液はグリシン溶液を使用した。

今回は、再生前後のセンサ特性の比較を行った結果を報告する (Fig.1)。

【実験方法】

電極幅、ギャップ共に 50 μm の櫛型電極を基盤として用いて実験を行った。ピラニア溶液 ($\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}_2 = 3 : 1$) 洗浄を 10 min 行った電極表面に自己組織化単分子膜 (MUA : MCH = 1 : 9) を成膜した。次にその末端を EDC/NHS 溶液で活性化した後、Protein G'を固定した。さらに未反応部分をトリエチレンジルコールモノアミンでブロッキング処理を施した。その後、抗ミオグロビン抗体を固定し試料を作製した。実験では基板をミオグロビン溶液に浸漬させ、濃度に対するインピーダンスの上昇率を計測した。計測を終えた基板をグリシン溶液 (0.2M, pH2.5) に浸漬させ、基板上的抗ミオグロビン抗体を脱離させた後、新たな抗ミオグロビン抗体を再固定した (Fig.2)。さらに再固定した基板を再固定前と同様にミオグロビン溶液に浸漬させ、インピーダンスの上昇率を計測した。

【結果】

再生前後のセンサ特性を Fig.1 に示す。ミオグロビンと反応させていないときのインピーダンスを基準とすると、ミオグロビン濃度が上昇するにつれインピーダンスの上昇率が線形的に増加していく。やがて変化が止み、ミオグロビンとの吸着サイトが満たされる。再生後のセンサ特性でも、再生前と同様に濃度に対して線形的に増加していくことが確認できた。この結果はグリシン溶液で抗体を脱離させ、新たな抗体を再固定することで再生前と同様のセンサを作成することが可能であることを示唆している。

しかし、再生前より低いセンサ特性を示している点については、グリシン溶液による Protein G'の変性が示唆される。そのため、再生時でのグリシン浸漬条件 (濃度、浸漬温度、浸漬時間) の最適化を施すことでセンサ特性の劣化を抑えることができると期待される。

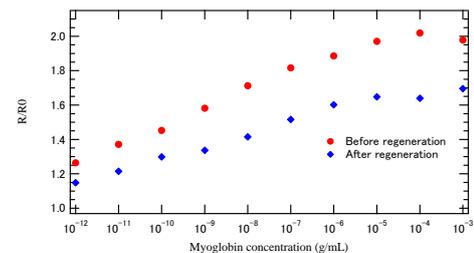


Fig.1 Sensor characteristics

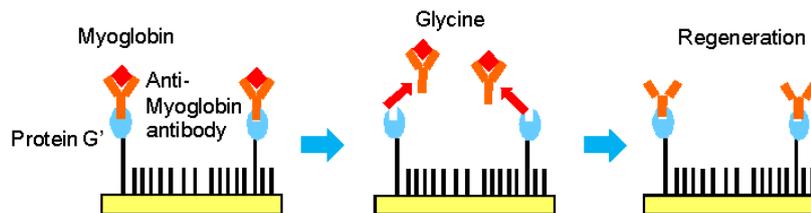


Fig.2 Process of regeneration