

# 拡張ゲート電界効果トランジスターを用いたクレアチニンセンサーの作製

## Fabrication of a Creatinine Sensor Using an Extended-Gate Field-Effect Transistor

大阪工業大学 ナノ材料マイクロデバイス研究センター

○平木 健太, 佐々木 太鳳, 牧野 賀成, 広藤 裕一, 小池 一步, 矢野 満明

Osaka Inst. of Tech., Nanomaterials Microdevices Research Center, °Kenta Hiraki, Taihou Sasaki, Kanaru Makino, Yuichi Hirofujii, Kazuto Koike, Mitsuaki Yano, E-mail: m1m20313@st.oit.ac.jp

### はじめに

近年, 体液に含まれる健康指標マーカーを連続, かつ, 繰り返し測定可能なウェアラブルバイオセンサーの需要が高まっている. これまでに我々は, 市販 MOSFET の拡張ゲート電極にグルコース酸化酵素を含む絹フィブロイン膜を形成し, 高感度で耐久性の高いグルコースセンサーが得られたことを報告している [1,2]. 今回, 腎機能の指標の一つであるクレアチニンを対象としたバイオセンサーを作製したことについて報告する.

### 実験と結果

まず, ガラス基板へ非加熱で厚さ 300 nm の Ti 薄膜をスパッタ成膜し, 続けて乾燥空气中で  $450^{\circ}\text{C} \cdot 1$  時間の熱処理を行って表面を  $\text{TiO}_2$  に酸化させた. 次に,  $\text{TiO}_2$  表面にアミノシラン分子を用いたシランカップリング処理を施し, その上に, 酵素を含む絹フィブロイン水溶液をスピコートした. 最後に, エタノール水溶液で不溶化処理を行い, 厚さ約  $1\ \mu\text{m}$  の絹フィブロイン酵素膜を形成した. ここで, シラン分子は信越化学工業製のアミノオクチルトリメトキシシラン (KBM-6803), 絹フィブロインは松田養蚕場製のナノフィブロインパウダー®, 酵素は東洋紡製のクレアチニンデイミナーゼ (Grade III, EC 3.5.4.21) を用いた.

絹フィブロインで包括固定した酵素の活性を調べるため, 富士フィルム和光純薬工業社製のアンモニアテストワコーを用いて, 比色測定を行った. Fig.1 に約 2 ヶ月間の酵素活性変化を示す. なお, 作製した絹フィブロイン酵素膜は  $4^{\circ}\text{C}$  の冷蔵庫内にて乾燥状態で保管し, 比色測定を行うたびに常温に戻した. 図より, 酵素活性が 1 ヶ月以上保たれており, その後, 緩やかに減少している. このことから, 絹フィブロインで包括固定した酵素は長期間に亘って活性を保つことが分かった.

次に, On Semiconductor 社製 n-MOSFET (2N7000) のゲート端子に上記の絹フィブロイン酵素膜/ $\text{TiO}_2$ /Ti/ガラスの拡張電極を接続し, Ag/AgCl 参照電極と一緒に pH 8.0 のリン酸緩衝液に浸した. Fig.2 に測定セットアップとクレアチニン濃度を

0→1.0→0 mg/mL と変化させた時の電圧応答を示す. クレアチニン濃度の増減に応じて電圧が明瞭に応答していることが分かる. 酵素反応によってアンモニアが生成されるが, このアンモニアがアンモニウムイオンになる際にプロトンを奪うので, 電圧応答は負となっている.

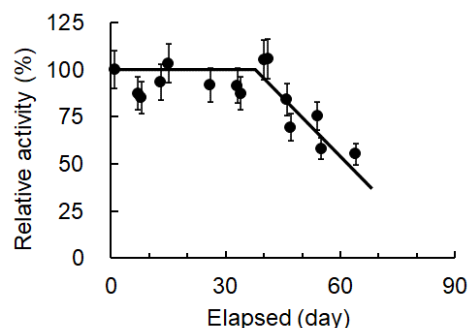


Fig.1 Storage stability of the creatinine deiminase immobilized in a silk-fibroin membrane. The enzyme activity was measured by a colorimetric method.

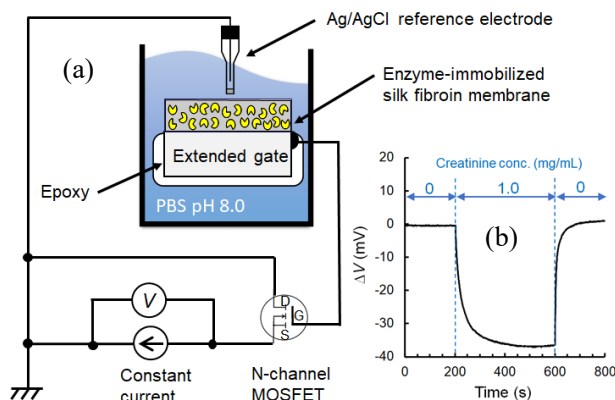


Fig.2 Schematic setup of the EGFET with a  $\text{TiO}_2$ /Ti extended-gate electrode modified by a silk fibroin membrane containing creatinine deiminase (a), and its  $\Delta V$  response to the change of creatinine concentration from 0 to 1.0 mg/mL and from 1.0 to 0 mg/mL in phosphate buffered solution (b).

- [1] 池ほか, 第 45 回秋季応物, 2018 年 9 月 19 日, 19p-221C-10.
- [2] 佐々木ほか, 第 80 回秋季応物, 2019 年 9 月 20 日, 20p-E202-14.