

マイクロ流体デバイス一体化バイオセンサにおける リポソーム固定化プロトコルとセンサ特性の検討

Investigation of protocol for liposome immobilization and sensing in microfluidic device-integrated biosensors

京工繊大・電気電子¹, 新潟大・自然科学²

○(M2) 高橋 悠矢¹, (B4) 宮岡 一輝¹, (M2) 紙谷 虎太郎¹, 水戸部 龍介², 長谷川 拓海²,
Carl Frederik Werner¹, 寒川 雅之², 野田 実¹

Kyoto Inst. Tech.¹, Niigata Univ.²

○Y. Takahashi¹, K. Miyaoka¹, K. Kamitani¹, R. Mitobe², T. Hasegawa²,
C. F. Werner¹, M. Sohgewa², M. Noda¹

E-mail: m1621032@edu.kit.ac.jp

【はじめに】

我々はパーキンソン病の発症原因物質とされている α シヌクレイン(aSyn)の検出において、脂質膜-aSyn 間に発現する相互作用現象に着目し、脂質種リポソームを表面固定化したカンチレバーの撓みの変化からゲージ抵抗変化を出力することで検出を行ってきた[1]。また、異なる脂質種リポソームやその表面修飾を利用した複数の認識分子による同時検出を一基板上で実現するため、汎用性を持ったマイクロ流体デバイスの開発を行っている[2]。マイクロ流路での溶液供給を介してターゲット分子の測定に至るまでに、エタノール、リポソーム含有溶液、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)をはじめとした複数種溶液を用いる(図 1)。本研究ではマイクロ流体デバイスと一体化したカンチレバーセンサ基板において、安定したセンサセルへの溶液供給の方法を検討した。

【デバイス作製・実験】

マイクロ流体デバイスは 3D プリンターで鋳型を形成し、未硬化 PDMS をモールドイングして作製した。PDMS は主剤と硬化剤は通常 10:1 である割合を 20:1 に変更し、11 分加熱し硬化させてからすぐに基板に貼り付け、再度 20 分程度加熱させることで一体化させた。

一体化させたアレイセンサ基板に溶液供給システムを使用し、エタノールと混合された 16-メルカプトヘキサデカン酸を導入して 2 時間静置させ、自己組織化単分子膜(SAM)を形成した。純水とエタノールを用いて基板及び流路内を洗浄した後、カルボキシ基の活性化を行った。再度純水で洗浄後に PBS 溶液中リポソームを流路へ導入し(図 2)、カンチレバー上へリポソームを固定化させた。いずれの作業工程においても、流路の作製、接着方法の変更後は溶液が流路外へ漏れないことを確認した。

上記の各種溶液供給、リポソーム固定化作業後に PBS 中に aSyn フィブリルを添加せずに供給、添加して供給した二つの場合で、カンチレバーの歪み抵抗変化率を測定した結果を図 3 に示す。aSyn の検出ができており、マイクロ流体デバイス内で各種溶液の操作が正常に行えていることが示唆された。(本研究の一部は科研 20H00663 の助成を受けて行った。)

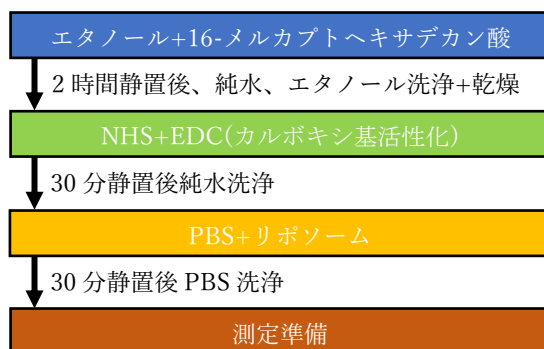


Fig. 1: Protocol of solution supply required to detect the target molecule.

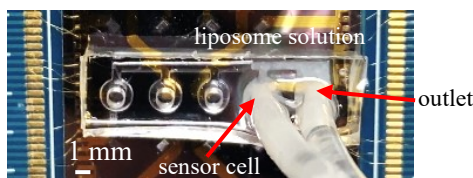


Fig. 2: Microfluidics-integrated cantilever array sensor; liposomes being introduced into the microfluidic channel.

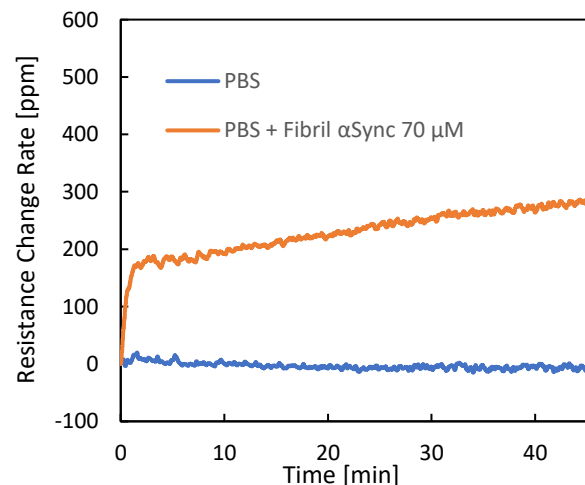


Fig. 3: Rate of change in gauge resistance when alpha-synuclein fibril is detected by a cantilever sensor integrated with microfluidics.

【参考文献】

- [1] R. Kobayashi et al. : IEEE SENSORS 2019, C3L-A-2, 1274.
[2] 高橋悠矢 他 : 2022 春応物 23a-E105-10