

酵素修飾回転ロッドデバイスを用いるアセチルコリンの分解

(豊技大工¹・豊技大教研基²) ○服部敏明¹・山田秋一¹・加藤亮²・澤田和明¹

Degradation of acetylcholine using a rotary rod device modified with enzyme

(¹Department of Engineering, Toyohashi University of Technology, ²Cooperative Research Facility Center, Toyohashi University of Technology) ○Toshiaki Hattori,¹ Syuichi Yamada,¹ Ryo Kato,² Kazuaki Sawada¹

Bioimaging by stimulating cells with chemical substances is an effective method for exploring the metabolic activity of cells because it can directly stimulate the receptors of cells. If a stimulus added to the measurement system can be selectively and immediately removed, it will be possible to repeatedly confirm noble cell experiments. In this study, we improved the sol-gel method for immobilizing acetylcholine (ACh⁺) degrading enzyme and developed a rotating rod device. After fixing acetylcholinesterase, which is an enzyme that decomposes ACh⁺, to the quartz glass at the tip of the rotating rod device by the sol-gel method, the decomposition device is immersed and the rod is rotated, and the amount of choline produced by the decomposition of ACh⁺ was colorimetrically analyzed. Using a strong base film at high temperature before making a film to fix the enzyme, we succeeded in fabricating the gradient device that can be used multiple times without peeling off.

Keywords : Rotary rod; Degradation device; Acetylcholine; Sol-gel method; Bioimaging

化学物質を用いた細胞の刺激によるバイオイメーjingは、細胞の受容体を直接刺激できるので細胞の代謝活動を探る上で有効な方法である。これまで、アセチルコリン(ACh⁺)を用いた刺激放出デバイスが開発し¹⁾、また、Ca²⁺イメージセンサを用いた細胞刺激観察に成功した²⁾。測定系に加えられたACh⁺を選択的に即座に取り除くことができれば、同じ位置もしくは刺激が到達していない位置での繰り返し刺激実験が可能になる。先に、ACh⁺分解デバイスを開発してきている³⁾。酵素固定をする中でゾルゲル法は有効であったが、複数回の使用で膜が剥離することがあった。本研究では分解酵素を固定するゾルゲル法を改良し、その回転ロッドデバイスを開発した。

回転ロッドデバイスの先端の石英ガラスにACh⁺の分解酵素であるアセチルコリンエステラーゼをゾルゲル法により固定させた後、分解デバイスを浸漬しロッドを回転させ、ACh⁺の分解によって生成されたコリンの量は比色分析を用いて評価した。今回、酵素を固定する膜をつくる前に高温で強固な下地膜を作ることによって、分解酵素が剥離せずに複数回安定して分解するデバイスの作製に成功した。

1) Evaluation of Acetylcholine Release and Hold Electrochemical Device by CCD Type Ion Image Sensor. I. Kageyama, R. Kato, K. Sawada, T. Hattori, *Chemical Sensors 12: Chemical and Biological Sensor and Analytical Systems*, **2016**, 75, 209. 2) Label-free real-time imaging of extracellular Ca²⁺ uptake in the hippocampal slice using Ca-PVC membrane based on charge-transfer-type potentiometric sensor arrays. H. Doi, K. Sawada, T. Horie, E. Shigetomi, B. Parajui, Y. Shinozaki, T. Noda, K. Takahashi, T. Hattori, S. Koizumi, *Proc. IEEE Sensor 2019*, **2019**, 27. 3) アセチルコリンエステラーゼを固定化したアセチルコリン分解デバイスの評価, 山田, 山井, 福與, 加藤, 澤田, 服部, 日本分析化学会第70年会, **2021**, Y2038.