

28P-pm03

脂質二分子膜をパターンニングしたガラスキャピラリーによる乳酸およびグルコースの同時計測

○東海林 敦^{1,2}, 高橋 裕輔², 大里 沙紀², 阪本 美里², 柳田 顕郎¹, 渋澤 庸一¹, 菅原 正雄² (¹東京薬大, ²日本大文理)

【目的】 ソフト界面である脂質二分子膜をパターンニングする技術が数多く報告されている。このデバイスでは脂質二分子膜のそれぞれの部位に異なる化学的機能を付与させることができる。そのため、複数の膜タンパク質の機能解析法や多成分を検出できるバイオセンサーへの応用が期待される。一方キャピラリーを用いたバイオセンシング法では、試料のサンプリング能の付与に加え、体積あたりの表面積が大きいことから分子認識能の向上が期待できる。本研究では、ガラスキャピラリー内にパターンニングした膜に乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) およびグルコースデヒドロゲナーゼ (GDH) をそれぞれ吸着させ、乳酸とグルコースの同時計測できるバイオセンサーの開発を検討した。

【方法】 清浄なガラスキャピラリーにオクタデシルトリクロロシラン溶液によりアルキル鎖を導入した後、BSA (牛血清アルブミン) を部分吸着させた。カチオン脂質を含むリポソームをキャピラリー内に送液して脂質二分子膜をパターンニングした。LDH および GDH 溶液をキャピラリー内における脂質二分子膜に吸着した。LDH, GDH およびジアフォラーゼによる酵素反応で生じる色素の蛍光強度を蛍光イメージャーで測定した (Ex. 514 nm, Em. 590 nm)。

【結果】 フォスファチジルコリン (PC) から構成される中性の脂質二分子膜と比較して、カチオン脂質を含む脂質二分子膜の方が GDH の吸着量が多いことがわかった。それぞれの酵素の吸着量が多いほど、酵素反応に基づく蛍光強度の値が増大した。血清中に含まれる乳酸およびグルコース量を考慮すると、0.01 mg/ml GDH および 0.05 mg/ml LDH 溶液をキャピラリー内に充填することにした。現在、乳酸およびグルコースの濃度依存性を検討中であり、血清試料への応用も検討する。