

小駒喜郎

目的別テーマ：生体材料を用いたバイオメテックス材料の開発

17 年度研究テーマ

15-3-14：カーボンナノファイバーへのヘムタンパク質の固定化による新規バイオセンサーの作製

ABSTRACT

Cytochrome P450 (CYP) metabolizes a lot of drugs in a human liver. Therefore, an immobilization of CYP on the electrode without denaturation is expected to create a drug-detection sensor. However, CYP is unstable against temperature. While carbon nanofibers (CNF) are molecular wires that exhibit interesting structural, mechanical, electrical and electrochemical properties. The purpose of the present study is that the CNF are to use a matrix for immobilizing heme-protein, such as CYP and cytochrome c (cyt.c). A carboxyl groups were introduced in the CNF surface, and then cyt.c was bound to the CNF. The CNF/cyt.c was immobilized on glassy carbon electrode (GCE), and the GCE/CNF/cyt.c electrode showed a good electron transfer and stability.

研究目的

花粉症やアトピー性皮膚炎治療における個々の患者に適した薬の投与量を探るため、より高感度かつ簡便な検出用センサーの開発が望まれている。ヘムタンパク質の一種であるシトクロム P450 (CYP) は、これらの薬物の半分以上を代謝している中心的酵素であるため、バイオセンサーとしての活用が期待されている。しかし、安定性に乏しい点がセンサー等のバイオマテリアルとしての活用への障壁となっている。一方、カーボンナノファイバー (CNF) は優れた導電性を有するため、バイオセンシングデバイスのマトリクスとして期待されている。そこで本研究では、CYP をはじめとするヘムタンパク質の安定な固定化担体として CNF を活用し、薬物体内濃度の簡便な検出用バイオセンサーの開発を目的とする。今回は CYP の前段階として、最も研究例の多いシトクロム C (Cyt.c) の固定化と電極活性を調べた。

一年間の研究内容と成果

CNF へのカルボキシル基の導入を IR により確認した後、octadecylamine 結合 CNF の NMR 測定により、CNF の C 原子約 27 個に 1 個カルボキシル基が導入されていることを確認した。イオン結合で Cyt.c を固定化した CNF/GC 電極では明確な Cyt.c の電極応答が得られたが、測定を繰り返すと Cyt.c が脱離したため応答が減少した。そこで、共有結合で Cyt.c を固定化した CNF/GC 電極で CV を測定したところ、スペーサーの有無に関わらず、僅かに電極応答が得られた。さらに、測定を繰り返すことでスペーサーを介さずに直接固定化した電極では、還元電流が著しく増加した (Fig.1)。これは測定の繰り返しにより溶存酸素量が増え、自動酸化された Cyt.c 量が増加したためと考えられる。

以上より、共有結合による CNF への Cyt.c 固定化電極は Cyt.c が脱離することなく電極応答を示すことが確認された。本研究により見出した固定化条件は CNF のバイオデバイス担体への利用へ向けて有用であることが示された。

展望

Cyt.c のかわりに CYP や他のヘムタンパク質の CNF への固定化とその電極活性及び基質特異性について検討する。また、固定化状態を TEM や AFM により観察する予定である。

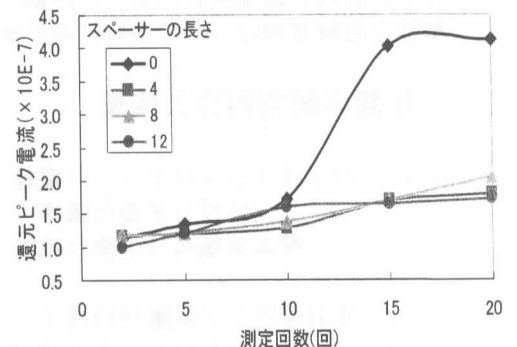


Fig.1. スペーサー長の異なる Cyt.c 固定化電極の繰り返し測定の影響