

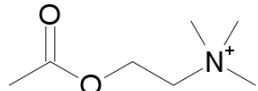
## 背景・目的

生体細胞や組織の働きを知るには、一般的に細胞や組織を刺激して、その代謝挙動を観察する。貴重な生物試料を繰り返し実験ができる方法にしたい。

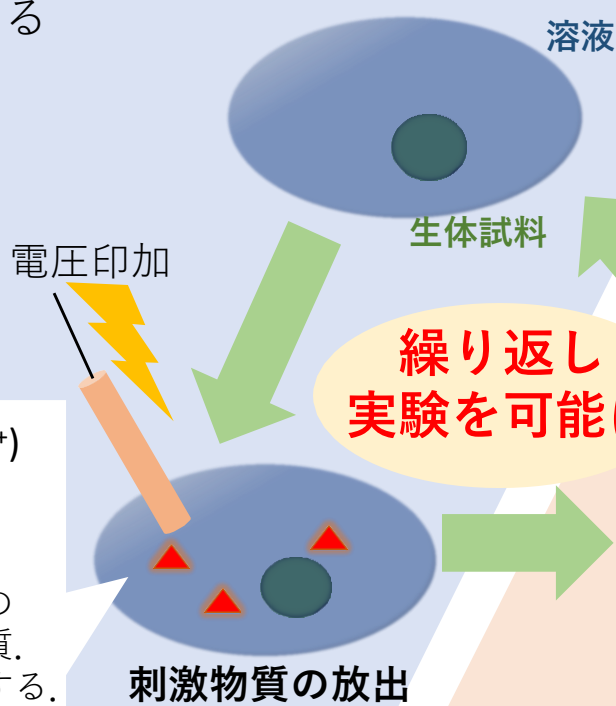
電気化学刺激による  
刺激物質の放出

- 特定の受容体を刺激
- 細胞移動なし
- 刺激領域を制御可能

アセチルコリン(ACh<sup>+</sup>)



神経細胞間で情報伝達の役割を担う神経伝達物質。本研究での刺激物質とする。



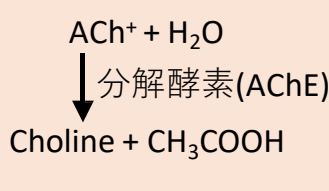
## 本研究

刺激物質を選択的に  
分解するデバイスを作製

分解酵素をデバイス先端に固定し、  
刺激物質の分解を行う。

分解デバイス

酵素の加水分解

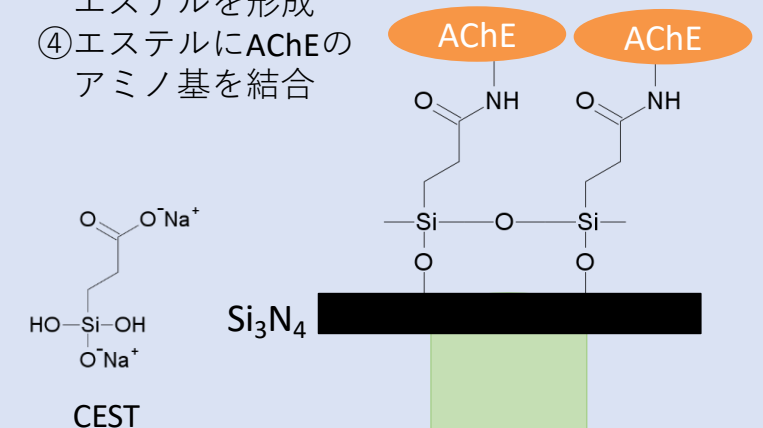


## 分解デバイス作製

### CEST法

AChEのアミノ基とエステル  
の化学結合により固定

- ①NaOHにより親水化
- ②CESTによりカルボキシル基を生成
- ③EDCによりNHSをカルボキシル基に結合させ、エステルを形成
- ④エステルにAChEのアミノ基を結合



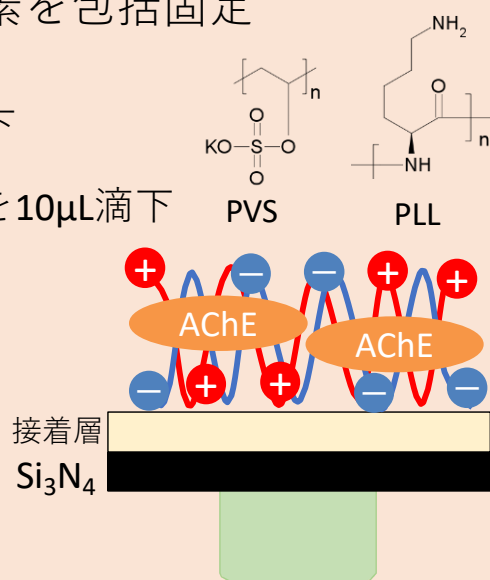
## ポリイオンコンプレックス法

静電的な結合に分子量の大きな酵素を包括固定

キトサンを溶解した酢酸水溶液10μL滴下

下表のポリイオンコンプレックス溶液を10μL滴下

| 試薬                    | 組成   |
|-----------------------|------|
| PVS (polyanion) 75mM  | 20μL |
| PLL (polycation) 60mM | 20μL |
| AChE 1Unit            | 10μL |
| BSA 0.1%              | 10μL |



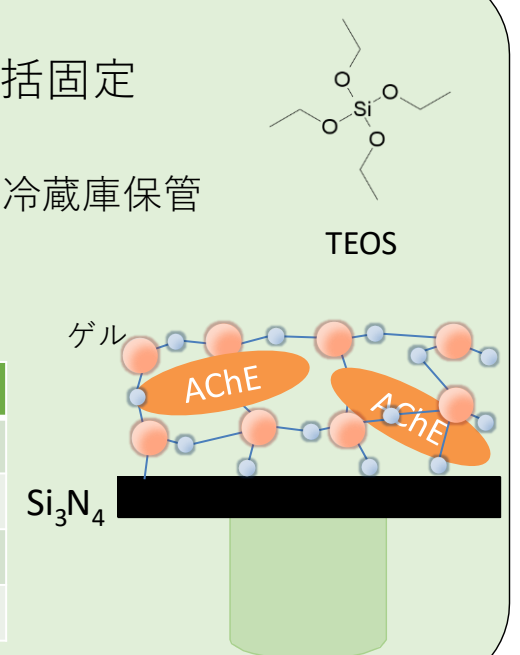
## ゾルゲル法

ゲルにより分子量の大きな酵素を包括固定

ゾルゲル溶液を作成後、超音波攪拌し、冷蔵庫保管

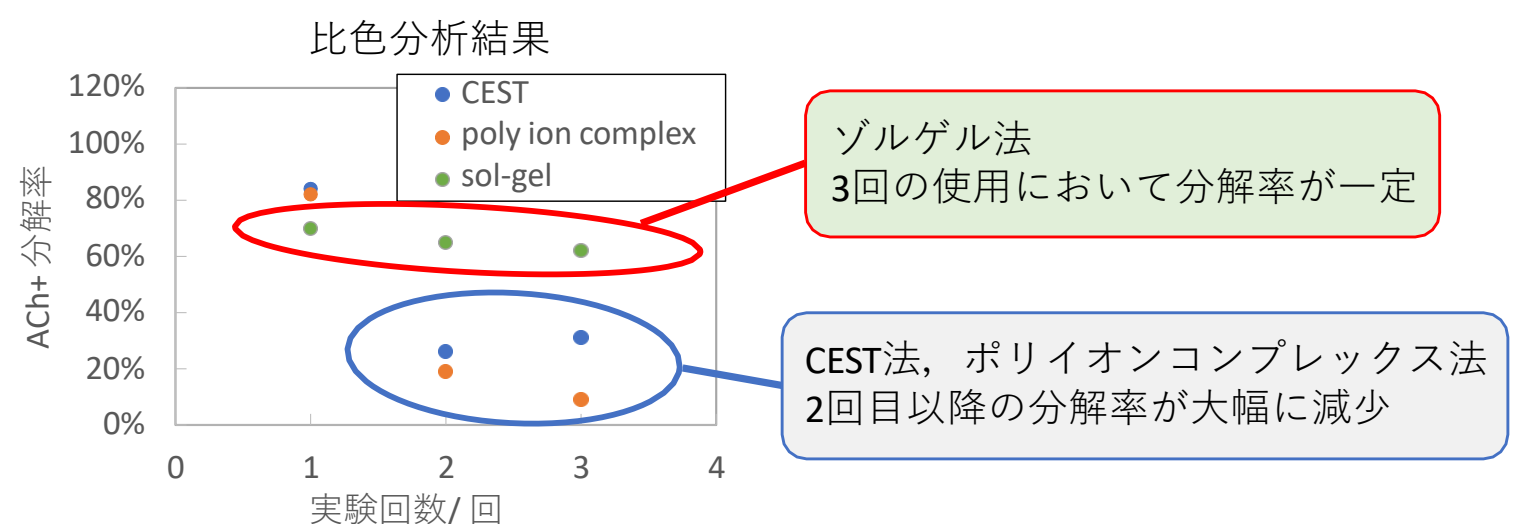
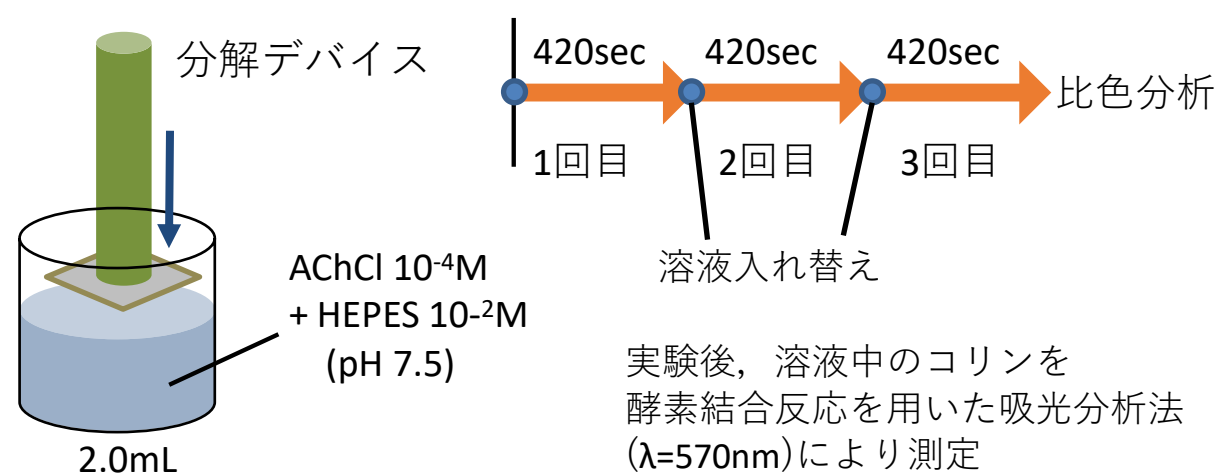
酵素入り溶液を作製し、15μL滴下

| ゾルゲル溶液           | 組成    | 酵素入り溶液     | 組成    |
|------------------|-------|------------|-------|
| TEOS             | 150mL | ゾルゲル溶液     | 50mL  |
| H <sub>2</sub> O | 400μL | HEC        | 1.3mg |
| HCl 1mM          | 400μL | PB pH8.0   | 90μL  |
| PEG300000        | 1.4mg | AChE 1Unit | 10μL  |



## 各分解デバイスの評価

上記3種類の方法にて作成した分解デバイスの性能評価を比色分析を用いて行った。

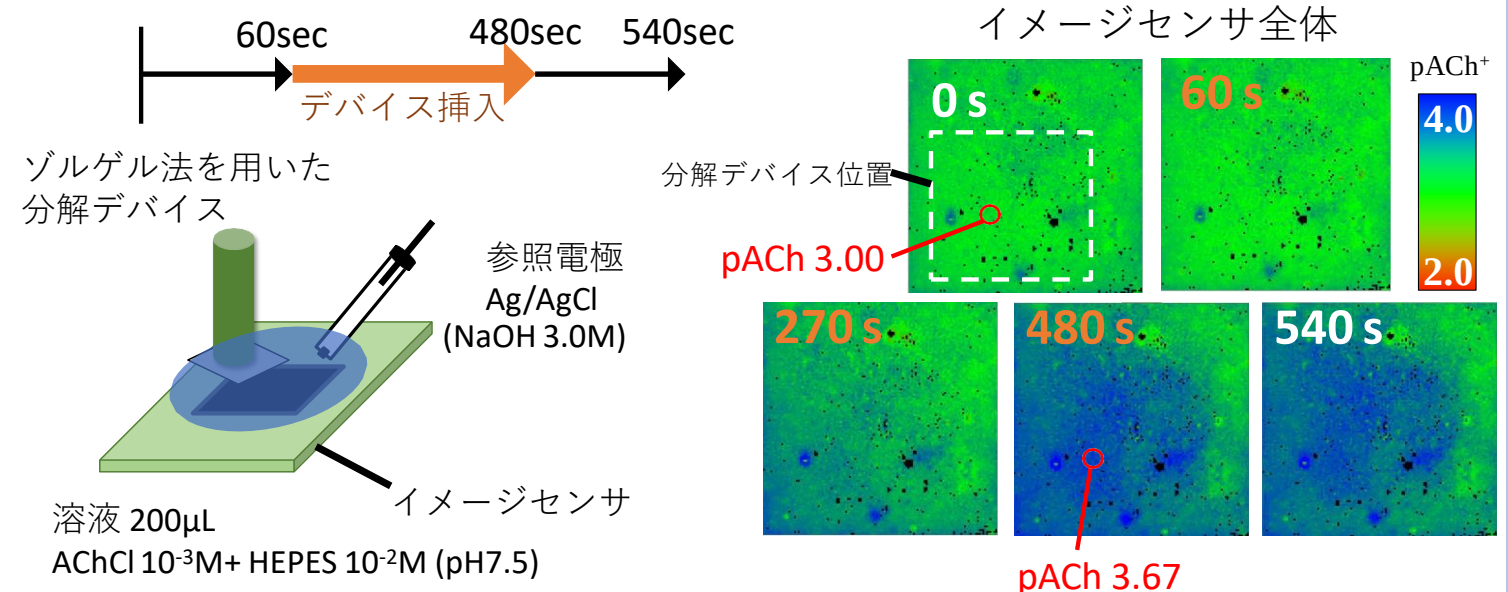
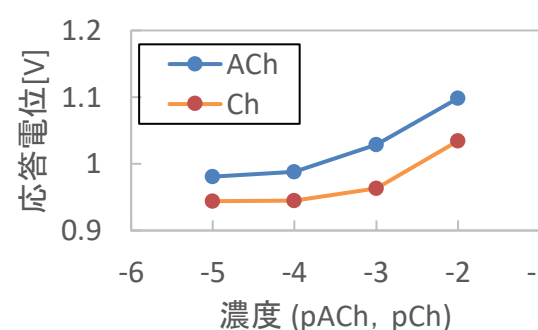
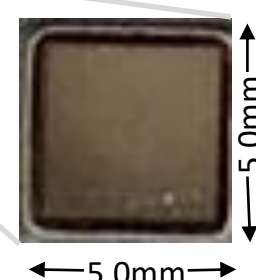
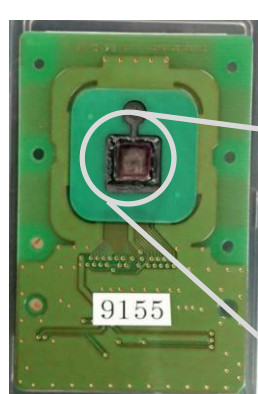


## ACh<sup>+</sup>イメージセンサによる動的ACh<sup>+</sup>イメージング

イメージセンサを用いて分解デバイスの様子を動的に観察

### ACh<sup>+</sup>イメージセンサ

pHイメージセンサに適切なPVC膜を塗布することにより、ACh<sup>+</sup>の2次元分布が得られるイメージセンサ。128×128pixelのセンシング領域を持つ



## 連絡先

豊橋技術科学大学 電気・電子情報工学系 服部研究室 thattori@ee.tut.ac.jp