

4Gp16 ナノカーボン電極を用いた神経伝達物質の高感度記録法の開発

○福田 真生, 鈴木 郁郎, 後藤 正男
(東京工科大学・バイオニクス)
isuzuki@bs.teu.ac.jp

【目的】神経細胞から分泌される神経伝達物質をリアルタイム且つ非侵襲に計測する技術は、脳回路疾患における回路機能の解明や薬効評価において有効な計測技術となる。しかしながら、細胞から放出される神経伝達物質をリアルタイム計測する技術は確立されておらず、その原因は、nMレベルの神経伝達物質を検出できる技術が無かったことによる。本研究は、高導電性および電気化学種の電子伝達を仲介する能力を持つカーボンナノチューブ(CNT)に着目し、CNT電極により低濃度の神経伝達物質を電気化学的に検出することを目的とした。【方法】CNTは単層CNT、多層CNT type-HBおよびtype-HCを使用し、充填型ベースト電極と直径50μmのITO電極にめっきした微小CNT電極を作製した。神経伝達物質として、ドーパミンとセロトニンをを用い、電気化学アナライザーにて各種神経伝達物質の検出感度を測定した。【結果】サイクリックボルタメトリー法にて計測した結果、充填型ベースト電極においてドーパミンとセロトニンに対して、1nM～10nMの検出感度での酸化ピーク電流の検出に成功した。同様に微小CNT電極においてもドーパミン、セロトニンに対して1nM～10nMの検出感度での測定に成功した。また、クロノアンペロメトリー法にて計測した結果、nMレベルでの定量的な計測に成功したことから、CNT電極を用いて細胞から放出される神経伝達物質をリアルタイムに計測できる可能性が示唆された。

Development of nano-carbon Electrode For High Sensitivity Recordings of Neurotransmitters

○Mao Fukuda, Ikurou Suzuki, Masao Gotoh
(Dept. Bio., Tokyo Univ. Technol.)

Key words carbon nanotube, neurotransmitter, micro electrode array

4Gp18 抗菌ペプチドを用いたラテラルフローによる腸管出血性大腸菌検出法の開発

○大槻 隆司¹, 米北 太郎¹, 北條 江里¹, 森下 直樹¹, 松本 貴之¹, 相沢 智康², 森松 文毅¹
(¹日本ハム・中研,²北大院生命・生命融合)
r-ohtsuki@hitec.co.jp

【背景】腸管出血性大腸菌(EHEC)による食中毒患者は毎年数百人程度にのぼり、中でも血清型O157, O26, O111によるものが大半を占めている。乳幼児や高齢者等では溶血性尿毒症症候群や脳症を発症し死亡する事もあり、EHECの迅速な検出・同定は食中毒予防や患者の重篤化を防ぐ上で重要である。細菌の迅速検出には遺伝子検査法(リアルタイムPCR等)や、免疫検査法(ラテラルフロー、ELISA等)が良く用いられるが、後者は抗体の性能により検出感度や特異性が左右される等抗体開発の難易性の問題がある。本研究では従来からの抗体サンドイッチ法によるラテラルフローを応用し、抗体と抗菌ペプチドを組み合わせる事で、1本のストリップでEHECの主要3血清型を同時かつ識別して検出可能な系を開発した。【方法】メンブレン上に3種類の補足抗体(抗O157, O26, O111抗体)を4mm間隔で塗布した。検出用プローブには抗菌ペプチド(Cecropin P1)を金コロイド標識して使用した。抗菌ペプチド—抗体サンドイッチ法をベースとしたストリップを作製し試験に用いた。特異性や検出感度の評価には、志賀毒素非産生株を含むO157; 22株、O111; 8株、O26; 17株の他、それ以外の血清型の大腸菌7株と腸内細菌等10種を供試した。【結果】本方法により1本のストリップでEHECの主要3血清型の同時検出に成功し、血清型の識別も可能であった。検出感度はどの血清型も10⁶CFU/mlであり、特異性についても他の血清型大腸菌等への交差は見られなかった。

Development of lateral flow assay using antimicrobial peptide for the detection of enterohemorrhagic *E. coli*.

○Ryuji Ohtsuki¹, Taro Yonekita¹, Eri Hojo¹, Naoki Morishita¹, Takashi Matsumoto¹, Tomoyasu Aizawa², Fumiki Morimatsu¹
(¹R&D Ctr., Nippon Meat Packers., ²Grad. Sch. Life Sci., Hokkaido Univ.)

Key words antimicrobial peptide, lateral flow

4Gp17 糖負荷刺激による膵臓のβ細胞からのGABA放出と制御機構

野村 真悟¹, 永井 裕次郎², 塩木 康紀¹, 岩谷 和輝², 河本 哲宏²,
○吉田 祥子¹
(¹豊橋技科大院・工・環境生命,²東海漬物(株))
syoshida@ens.tut.ac.jp

膵臓のβ細胞は高濃度のγ-アミノ酪酸(GABA)を含有することが知られている。近年、GABAは小胞性GABA輸送体(VGAT)からインスリンを含有している分泌性小胞にとりこまれ、グルコース刺激によって、インスリンと同時に開口分泌によりβ細胞から放出されると報告されている。我々は神経伝達物質放出の観察のために開発した酵素担持光学測定法を用いて、スライスしたラットの膵臓の膵島細胞からのGABAおよびグルタミン酸(Glu)の放出を観察した。その結果、20mMグルコースによる糖負荷刺激に対するGABA放出増加が示された。一方、グルタミン酸(Glu)放出の変化は僅かで、糖負荷刺激と明白な関係が示されなかった。GABA放出は、細胞外Ca²⁺の除去によって有意に抑制され、開口放出であることを裏付けた。また、低週齢のラットと高週齢のラットの糖負荷刺激に対するGABA放出には、反応速度の違いが見られた。若週齢のラットでは、糖負荷刺激により急速なGABA放出が見られたが、高週齢のラットでは緩やかなGABA放出が観察された。加えて、GABA_A受容体拮抗薬であるビククリン(100μM)の投与を行ったところ、糖負荷刺激に対するGABA放出が、ビククリン投与によりさらに増大することが観察された。β細胞からのGABA放出は、隣接するα細胞のGABAA受容体を通じたグルカゴン分泌の抑制効果を持つことを示唆する。ビククリン投与の結果は、α細胞のGABAA受容体を阻害することでGluの放出が抑制されず、Gluがβ細胞を刺激し続けている可能性を示唆する。

GABA release and control from pancreatic β-cells for hyperglycemia

Masato Nomura¹, Yujiro Nagai², Yasunori Shioki¹, Kazuki Iwaya²,
Tetsuhiro Kawamoto², ○Sachiko Yoshida¹
(¹Dep. Envir. Life Sci. Toyohashi Univ. Technol., ²R&D lab., Tokai Pickeling)

Key words GABA, Islet, photo assay, Insulin

4Gp19 無機ヒ素とカドミウムの迅速検出のための熱応答性磁性ナノバイオセンサー

○前田 勇, シディキ モハマド ショヘル ラナ, 下青木 駿, 上田 俊策
(宇都宮大・農)
i-maeda@cc.utsunomiya-u.ac.jp

【目的】緑色蛍光タンパク質で標識されたセンサータンパク質であるArsR-GFPとCadC-GFPが、As(III)あるいはCd(II)を簡便かつ低コストで定量可能なバイオセンサーとして開発された。本研究では、センサータンパク質—プロモーター DNA複合体を異なる粒子サイズを有する磁性粒子上に再構築し、アクセス時間の短縮を試みた。【方法】90 nm、2.8 μm、そして37-100 μmのサイズを有する磁性粒子を用いた。磁性粒子上に再構築した複合体から、一定時間後に解離したArsR-GFPあるいはCadC-GFPの濃度を蛍光にて測定した。【結果と考察】5分間の反応後に、バイオセンサー粒子を磁石により除いて得られた上清の蛍光強度は、有害金属濃度に応じて増加した。検討した粒子の中では90 nmの熱応答性磁性ナノ粒子で、1分間の熱処理が磁気分離に必要であったが、最も高感度化が可能であった。精製水中の検出下限濃度はAs(III)とCd(II)でそれぞれ5分後と2分後に1 μg/Lであった。したがって、構築された熱応答性磁性ナノバイオセンサーにより飲料水中の迅速かつ高感度測定が可能であることが示された。

Thermoresponsive magnetic nano-biosensors for rapid measurements of inorganic arsenic and cadmium

○Isamu Maeda, Mohammad Shohel Rana Siddiki, Shun Shimooki, Shunsaku Ueda
(Fac. Agric., Utsunomiya Univ.)

Key words magnetic nanoparticle, heavy metal, arsR, cadC