HiPep Laboratories

テクニカルノート 基板誘導体化とマニュアルアレイの方法 （1）

研究の自由度を拡げる、マイクロアレイを自作する方法
探索研究から応用展開まで、ラボでの創造性を加速させます

1. 概要

バイオチップは捕捉分子とサンプルとの組み合わせにより非常に幅広い応用があります(図1)。特にアモルファスカーボン素材であるPepTenChip®基板は耐薬品、低い自家蛍光、タンパク質の低吸着、導電性などバイオチップに適した特性を持つため、研究目的に合わせて自在に設計可能です。(PAT & PAT.P)
本レポートでは、カルボキシ基を持つ小分子（ビオチン）を捕捉分子として、リンカーを介してカーボン基板に固定化する実験手法をご紹介いたします。
Webに操作している動画もございますのであわせてご覧ください。

「マニュアルアレイ作成法」
YouTube

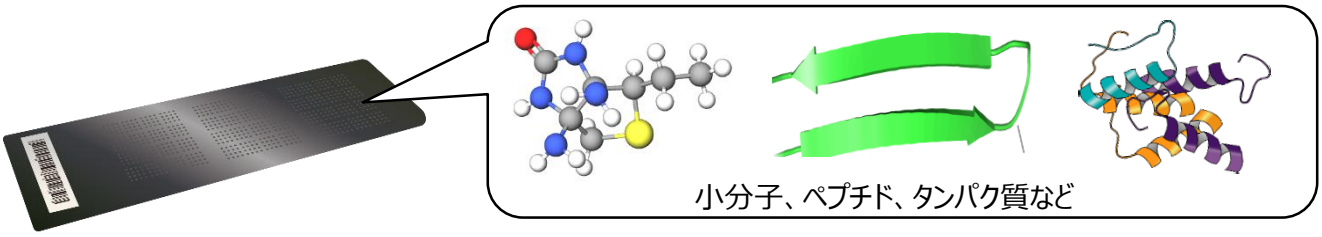

図1 PepTenChip®と捕捉分子候補

2. 誘導体化手順

捕捉分子に合わせてカーボン基板表面を誘導体化処理します。 ここではカルボキシ基基板を出発原料にリンカーを介してアミノ基末端へと誘導体化します(図2)。

2-1 NHS化

1. *N*-Hydroxysuccinimide (NHS) 34.5 mgを*N,N*-dimethylformamide(DMF)10 mLに溶解する。
2. カルボキシ基基板を反応容器に入れ(図3)、上記溶液を加えDMFで30 mLにメスアップする。(終濃度10 mM)
3. *N,N'*-Diisopropylcarbodiimide 46 µLを加え1時間振とうする。(終濃度10 mM)
4. 反応溶液を捨て、基板(NHS基基板)をDMF で5回洗浄する。

2-2 アミノ化(hexamethylene linker)

1. NHS基基板を反応容器に入れ、DMF 30 mLを加える。
2. hexamethylene diamine 42 µLを加え1時間振とうする。(終濃度10 mM)
3. 反応溶液を捨て、基板をDMF で5回、methanolで5回洗浄する。
4. 遮光し一晩真空乾燥する。

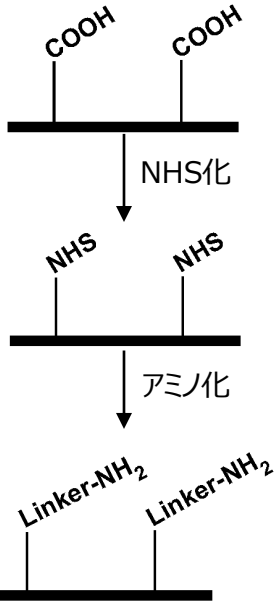

図2 誘導体化

TIPS
- アミノ基、マレイミド基、ブロモアセチル基など、実験用途に合わせて様々な誘導体化処理を施した基板製品をご用意しています。
- 基板は実験用手袋を着用してお取り扱い下さい。
- 弊社ではSlide Fix™ slide jar(Evergreen Scientific)を反応容器に使用しています。

図3 基板と反応容器

（株）ハイペップ研究所 〒602-8158 京都市上京区下立売通千本東入中務町486-46
TEL: 075-813-2101, FAX: 075-801-0280, E-mail: info@hipep.jp, URL: http://hipep.jp/

テクニカルノート 基板誘導体化とマニュアルアレイの方法 (2)

3. マニュアルでアレイ製作

誘導体化した基板の末端官能基(-NH_2)と捕捉分子(D-Biotin)を結合させます(図4)。共有結合により固定化された捕捉分子は安定となり、洗浄操作各種が可能となります。

1. D-Biotin 2.4 mg、HBTU 3.8 mgをDMF 1 mLに溶かす。(各終濃度10 mM)
2. 上記溶液に*N,N*-Diisopropylethylamine 3.48 µLを加え活性化させる。(終濃度20 mM)
3. 基板の誘導体化部位の任意の箇所に反応溶液0.1 µL滴下する(図5)。
4. 反応容器に入れ遮光し1時間静置する。
5. 基板をDMF、H_2Oの順に濯ぐ。
6. 基板を50% isopropanolに浸漬し15 min超音波洗浄する。
7. 基板に50% isopropanolを少量滴下しPVAスポンジ等を用いてスクラブ洗浄する。
8. 再度基板をDMF、H_2Oの順に濯ぐ。
9. 基板をスピン乾燥により乾燥させる。

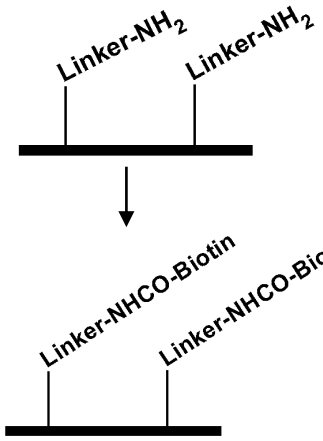

図4 マニュアルアレイ

以降アッセイ操作へ続く

TIPS
- 予め溶媒のみでお試しすることをお奨めします。
- 反応溶液をDMFなどの有機溶媒で調製した場合、表面張力やコーティングとの相互作用などにより、水系に比べ少々滲みやすいためご注意下さい。
- 濃度、反応時間等は固定化したい捕捉分子によって異なる場合があります。
- 弊社ではベルクリン(AION Co., Ltd.)を洗浄用スポンジに用いています。

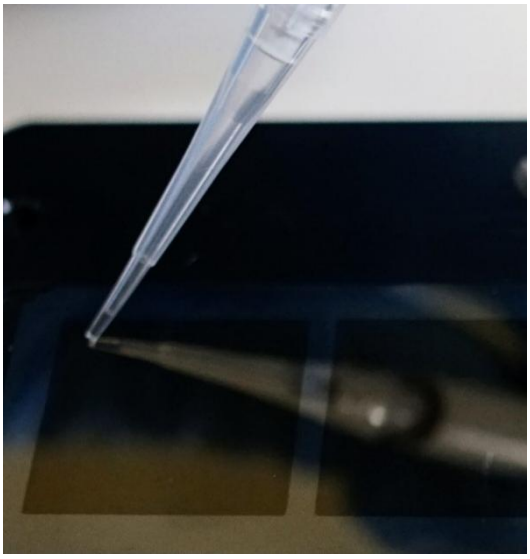
図5 アレイの様子

4. 仕様

項目	規格
材質	アモルファスカーボン
外径	25.0 x 75.0 x 1.00 mm (標準のスライドガラスサイズ)
平滑度	<1 nm
平坦度	<10 µm
アミノ基量	ca. 4-5 nmol/cm^2
電気抵抗率	40-45×10^{-6} Ωm

References
1) Tominaga, Y., et.al., *Anal. Methods*, 2025, **17**, 4590
2) 軒原, 化学工学第88巻2号, 61-64, 2024

5. 製品

P/N	品名
PTC-CA02-01	PepTenChip® CA（表面カルボキシ基、3ブロック加工）※
PTC-CA-01	PepTenChip® CA（表面カルボキシ基、全面加工）※

※他にも様々な官能基・加工パターン・基板サイズがございます

関連Webページ
PepTenChip® https://hipep.jp/?p=781
オリジナルマイクロアレイ https://hipep.jp/?p=5825
HiPep YouTube
https://www.youtube.com/@Hipep/featured