

フェニルケトン尿症診断のための 光ファイバ型フェニルアラニン用バイオセンサ

Fiber-optic phenylalanine biosensor for diagnosis of phenylketonuria

東医歯大¹, 東京工科大², [○]船橋 健吾¹, 越田 智之²,

宮島 久美子¹, 荒川 貴博¹, 工藤 寛之¹, 矢野 和義², 三林 浩二^{1*}

Tokyo Medical and Dental Univ.¹, Tokyo National Collage of Tech.²

[○]Kengo Funahashi¹, Tomoyuki Koshida², Kumiko Miyajima¹, Takahiro Arakawa¹

Hiroyuki Kudo¹, Kazuyoshi Yano², Kohji Mitsubayashi^{1*}

E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

【研究目的】

先天性アミノ酸代謝異常疾患であるフェニルケトン尿症(Phenylketonuria, PKU)は、小児に精神遅滞等の重篤な症状を引き起こすことが知られている。PKU の治療では、食事制限により血中のフェニルアラニン(phenylalanine, Phe)を適切に管理することが必要である。現在、血中 Phe 濃度測定に広く用いられているガスリー法は、細菌の発育円を肉眼判定するため時間を要し、定量性に乏しいため、より簡便かつ定量的な検査方法が望まれている。そこで本研究では、新たに開発した NADH 蛍光検出器と脱水素酵素を組み合わせることで、Phe 濃度を高感度に測定可能な Phe 計測用バイオセンサを構築し、PKU 診断への可能性を評価した。

【実験方法】

バイオセンサの構築ではフェニルアラニン脱水素酵素(phenylalanine dehydrogenase, PheDH)を親水性の H-PTFE 膜に包括固定化し、これを NADH 蛍光検出器の光ファイバ先端に装着することで Phe センサとした。なお NADH は蛍光特性 (em: 340nm, ex: 491 nm) を有することから、蛍光検出器は、2 分岐型の光ファイバを介して励起光源(UV-LED、λ: 335 nm)と検出器である光電子増倍管(PMT)をそれぞれ帯域フィルタ(励起光側: 330-350 nm, 蛍光側: 490-510 nm)を介して接続し作製した。PheDH は以下の反応を触媒することで NADH を生成する。



センサの特性は、上記脱水素反応により生成される NADH の蛍光強度の変化を測定することで、Phe 濃度を計測し、デバイス性能を評価した。

【結果と考察】

NADH 蛍光検出器の特性を調べたところ、NADH 濃度に応じた蛍光強度が測定され、10～10000 nM の濃度範囲で NADH の定量が可能であった。次に、本検出器のファイバプローブ先端に PheDH 固定化膜を組み合わせることで作製したバイオセンサの特性を評価した結果、血中 Phe 正常値(57.1～68.7 μM)及び PKU 判断値(600 μM)を含む 10～10000 μM の範囲で Phe 濃度の定量が可能であった。また、各種アミノ酸(グリシン、トリプトファン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、バリン)を用いセンサの選択性を調べたところ、センサは Phe 以外に応答を示さず高い選択性が確認され、血中 Phe 濃度の迅速計測の可能性が示唆された。