

ステロイドホルモンのその場検査に向けた分子鑄型ポリマーを利用した検査チップの開発

Molecularly imprinted point-of-care chips for the recognition of a target steroid hormone

日立横研¹, 神戸大院工² °谷口 伸一¹, 村瀬 敦郎², 竹内 俊文²

Yokohama Research Lab., Hitachi, Ltd.¹, Graduate School of Engineering, Kobe Univ.²,

°Shin-ichi Taniguchi¹, Nobuo Murase², Toshifumi Takeuchi²

E-mail: shinichi.taniguchi.sk@hitachi.com

<緒言>

臨床現場でのその場検査 (Point-of-care tests: POCTs) は、迅速かつ高感度で安価なことが求められる。従来の POCTs はタンパク質抗体を用いることが主流で、検出感度は高いものの安価な検査提供には課題が残る。そこで、我々は、検査したい標的分子を認識するバイオミメティックなシステムとして分子鑄型技術に着目した。分子鑄型技術は標的分子の構造や物性に応じて、化学合成的にポリマーを作製することが可能である。タンパク質抗体に比べて、この分子鑄型ポリマー (Molecularly imprinted polymers: MIPs) は、POCTs の生産コストを低減する可能性を有している。MIPs の一般的作製方法は、以下のとおりである。鑄型分子と機能性モノマーが複合体を形成している状態で、架橋性モノマーと共重合させる。その後、鑄型分子を除去することで、鑄型分子を選択的に認識する空孔を有した MIPs が得られる。

我々は、この MIPs と蛍光検出技術を組み合わせ、POCT 向けステロイドホルモン検出チップを開発中である。本報告では、ステロイドホルモンのうち慢性ストレスと特に関連の深いコルチゾールに着目し、その MIPs 合成と応用について報告する。

<実験>

コルチゾールを直接鑄型分子とした MIP0 を調製すると共に、重合反応性のメタクリロイル基をコルチゾールの 21 位水酸基にエステル結合した誘導体を鑄型分子として、架橋性モノマーと共重合させ MIP 1 を得た (Figure 1, Table 1)。その後、アルカリにより加水分解し、コルチゾール由来の分子が検出されなくなるまで洗浄した (Table 1)。また、鑄型分子なしで調製した Non-imprinted polymer (NIP) も用意した。

<結果・考察>

HPLC を用いて、MIP 2 種及び NIP (Non-imprinted polymer) のコルチゾール吸着特性を調べたところ、コルチゾール濃度 125 μ M において、MIP 1 のコルチゾール吸着量は MIP 0 よりも 25 倍大きかった。よって、メタクリロイルの導入は、高感度検出に有効な手法であることがわかった。当日は、分子鑄型ポリマーのその場検査チップへの応用及び更なる高感度化について報告する。

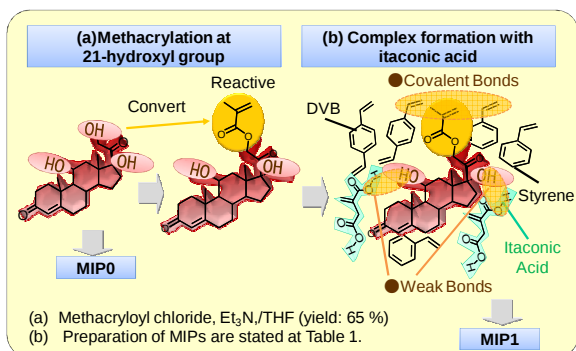


Figure 1. MIP strategy of this work.

	template	Monomer	Linkage
MIP0	cortisol	itaconic acid	DVB, styrene
MIP1	methacryloyl-cortisol	itaconic acid	DVB, styrene
NIP	—	itaconic acid	DVB, styrene

Stir 3h at room temperature: catalysis: V-70, solvent: THF
V-70: 2,2'-Azobis(4-methoxy-2,4-dimethylvaleronitrile)
After polymerization
Thorough alkali hydrolysis or/and methanol wash

Table 1. Preparation of MIP and NIP (Non-imprinted polymer).