

糖鎖機能化グラフェン FET を用いたノイラミニダーゼ反応計測

Neuraminidase Assay using Glycan-Functionalized Graphene-FET

○鎌田 果歩¹、小野 堯生¹、金井 康¹、大野 恭秀^{1,2}、前橋 兼三^{1,3}、井上 恒一¹、
渡邊 洋平⁴、河原 敏男⁵、鈴木 康夫⁵、中北 慎一⁶、松本 和彦¹

(阪大産研¹、徳島大²、東京農工大³、京都府立医大⁴、中部大⁵、香川大⁶)

○K. Kamada¹, T. Ono¹, Y. Kanai¹, Y. Ohno^{1,2}, K. Maehashi^{1,3}, K. Inoue¹,

Y. Watanabe⁴, T. Kawahara⁵, Y. Suzuki⁵, S. Nakakita⁶ and K. Matsumoto¹

(ISIR, Osaka Univ.¹, Tokushima Univ.², TUAT³, KPUM⁴, Chubu Univ.⁵, Kagawa Univ.⁶)

E-mail: kamada11@sanken.osaka-u.ac.jp

タミフル[®]、リレンザ[®]等、多くの抗インフルエンザウイルス薬は、ウイルスが感染細胞から脱離し、次細胞に感染する過程を標的としている。インフルエンザウイルスは、咽喉や気管の上皮細胞表面にあるウイルス結合性シアロ糖鎖に結合し、細胞内へ侵入・増殖した後、酵素ノイラミニダーゼ(NA)の作用によってシアロ糖鎖を切断、細胞から脱離して次細胞へ感染する。そのため、NA を阻害することでウイルスの連鎖的な増殖を抑制できる。現在、抗ウイルス薬の評価は主に培養細胞を用いて行われているが、長時間を要する上に精度や定量性に課題があり、作用機序の評価も困難であった。我々は、グラフェン電界効果トランジスタ(G-FET)表面にシアロ糖鎖を修飾し、細胞表面の環境をグラフェン上に再現して、そこからウイルスが脱離する反応挙動を G-FET で高感度に計測することで、薬剤作用を物理的指標によって定量的に評価し、薬剤評価・創薬研究に有用な新たな生体モデルプラットフォームの構築を目指している。ここでは第一段階として、細胞表面の機能を付与するため糖鎖を修飾したグラフェン、即ち糖鎖機能化グラフェン上でのシアロ糖鎖・NA 反応を電氣的に計測した。

G-FET は剥離法で得たグラフェン上に電極を形成して作製した。1 ピレンブタン酸スクシンイミジルエステルをリンカーとして、アミノ基を修飾したヒト型シアロ糖鎖をグラフェンチャンネルに修飾した(Fig. 1)。その後、糖鎖のシアル酸部分を加水分解する NA を滴下し、G-FET のドレイン電流を経時計測した。

ホールキャリアによるドレイン電流の時間変化を Fig. 2 に示す。NA を滴下すると、電流値が指数関数的に減少した。これは、負電荷を帯びたシアル酸が糖鎖から切断されたことで、負電荷がグラフェン上に誘起していたホールキャリアが減少したためだと考えられる。ノイラミニダーゼ滴下による電流値の減少速度は、吸光法によって得られた活性値(NA1 分子が 1 秒間に 1.7 分子のシアロ糖鎖を切断する)から求められる酵素反応速度とよく一致しており、シアロ糖鎖・NA 反応が電氣的に計測されたことを示している。

【謝辞】本研究は、JST・CREST の支援を受けたものである。

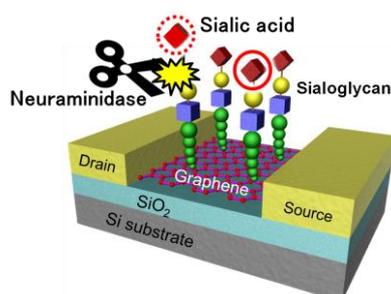


Fig. 1: Schematic image of neuraminidase assay using graphene-FET. After cleavage of the sialoglycan, sialic acid diffuses away from graphene surface.

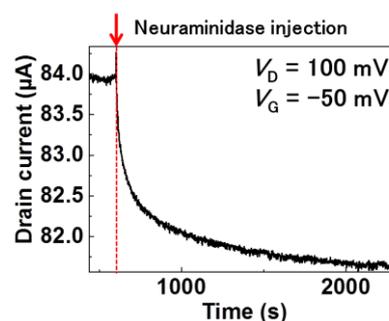


Fig. 2: Time course of the neuraminidase reaction monitored by the graphene-FET.