糖タンパク質を識別する分子インプリントポリマーナノ薄膜の創製

神戸大院工　林 智彦、砂山 博文、○(PC)香門 悠里、北山 雄己哉、竹内 俊文
Kobe Univ., Tomohiko Hayashi, Hirobumi Sunayama, °(PC)Yuri Kamon, Yukiya Kitayama, Toshifumi Takeuchi
E-mail: takeuchi@gold.kobe-u.ac.jp

標的タンパク質を認識する高分子材料の設計において、誤認識の生じない分子認識空間の構築は重要である。当研究室では、高分子材料内に形成した分子認識空間内に後天的に種々の官能基を選択的に修飾できるポストインプリント官能基修飾(PIM)法を独自に開発し、これまでに適切な相互作用官能基の導入により、肝臓がんマーカータンパク質α-fetoprotein (AFP)などの高感度検出に成功している[1]。本研究では、糖タンパク質の一つである前立腺特異抗原(PSA)を標的とし、ボロン酸による糖鎖認識およびPIMによって導入した官能基によるアミノ酸残基認識の双方が機能する分子認識空間をもつ分子インプリントポリマー(MIP)ナノ薄膜の創製を目指す。

分子認識空間内を選択的に官能基修飾するための可逆結合であるオキシム結合、PSA導入部位であるピリジルジスルフィド基、および重合官能基、以上3つの機能性部位を有する機能性モノマーを設計・合成した(Figure 1)。糖鎖認識のためのフッ素化フェニルボロン酸および重合開始基を金基板に修飾し、合成した機能性モノマーを導入したPSAをボロン酸エステル形成により固定した。その状態で親水性モノマーを用いた表面開始原子移動ラジカル重合を行った。ボロン酸エステルおよびオキシム結合の加水分解によりPSAを除去して約2.5 nmのPSAのMIPナノ薄膜を得た。構築したMIPの分子認識空間内に残存する機能性モノマー由来のアミノ基(Figure 2a)に、テレフタルアルデヒド酸を反応させて再びオキシム結合を形成することにより、アミノ酸残基相互作用部位であるカルボキシル基を導入するPIMを行った(Figure 2b)。表面プラズモン共鳴法により、PIM後でPSAの結合レスポンスが大きくなったことからPIMによるMIPの認識能の向上が示唆された。検出限界(LOD)およびPSAに対する他の糖タンパク質の結合選択性は、重合時に架橋剤を10%導入して分子認識空間の剛直性を高めることで向上し、PSAの閾値(4.0 ng/mL)以下のLOD (3.3 ng/mL)を達成した。

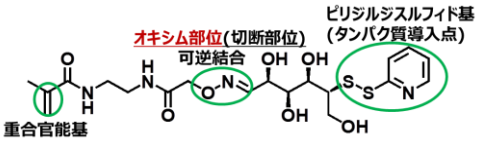

Figure 1. Design of a functional monomer

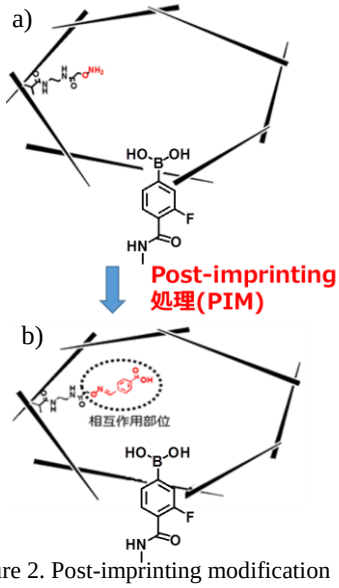

Figure 2. Post-imprinting modification

本手法は、ボロン酸による糖鎖認識に加えて、標的タンパク質のアミノ酸残基に合わせた認識部位を分子認識空間内のみに導入できる技術であることから、生物学的に重要な多様な糖タンパク質認識ポリマー材料創製に繋がり、種々の糖タンパク質センサへの展開が期待される。

[1] R. Horikawa et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 13023-13027.