

ポストインプリンティング修飾ナノキャビティによる前立腺特異抗原の高感度蛍光検出

Sensitive Detection of Prostate Specific Antigen by Molecularly Imprinted Nanocavities Prepared via Post-imprinting Modifications

神戸大院工¹, 安田女子大薬² 佐伯 哲郎¹, 砂山 博文^{1,2}, 高野 恵里¹,

Kobe Univ.¹, Yasuda Women's Univ.², Tetsuro Saeki¹, Hiroumi Sunayama^{1,2} °Eri Takano¹, Yukiya Kitayama¹, Toshifumi Takeuchi¹

E-mail: takeuchi@gold.kobe-u.ac.jp

前立腺特異抗原 (PSA) は、前立腺癌の腫瘍マーカーとして前立腺癌発症時にその血中濃度が上昇することが知られている。一方で、PSA は前立腺肥大症、前立腺炎などでも濃度が高まるため、血中の総 PSA 濃度が 4~10 ng/mL において癌罹患率が 20~30%程度と低いことから、このグレーゾーンを下回る低濃度域における PSA の高感度検出が可能な分子認識材料の創製が求められる。

タンパク質認識材料創製法として分子インプリンティング (MI) は、サイズや形状が標的タンパク質に適した分子認識空間を高分子内に構築可能であり、標的タンパク質に対する特異的認識能をもつ分子認識高分子材料の創出が期待されている[1,2]。本研究では、PSA を標的とし、ボロン酸による糖鎖認識および PIM により導入した官能基によるアミノ酸残基認識の認識効果に加えて、二段階目の PIM により導入した蛍光分子による PSA の高感度・高選択的蛍光検出が可能なナノキャビティを持つ MIP 薄膜の創製を目指した。

PSA にチオール基を導入した PSA-SH を鋳型分子とし、このチオール基を利用してセンサ基板への固定化と PSA への重合官能基の導入を行った。糖鎖認識部位形成のためのフッ素化フェニルボロン酸機能性モノマー、及び親水性モノマーと架橋剤を加えて表面開始原子移動ラジカル重合を行い PSA インプリントナノ空間を形成した。続いて、PIM によりこの空間内に相互作用部位であるカルボキシ基と、蛍光分子を導入した。表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定と蛍光顕微鏡測定により、得られた MIP 薄膜の PSA 認識能を評価した。

SPR 測定より、得られた MIP の PSA に対する結合定数は $1.2 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1}$ であると見積もられた。また、糖鎖をもつ γ -グロブリンおよび糖鎖を持たないヒト血清アルブミンを用いた対照結合実験では、MIP 薄膜は PSA を有意に識別可能であった。さらに、蛍光顕微鏡測定では分子インプリント空間内にのみ蛍光分子を導入することによって、良好な S/N 比を実現し、SPR 測定結果と比較してより高感度で PSA を検出可能であることが示唆された。

1) *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 12765. 2) *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016, 55, 13023.