

多点認識分子インプリント空間による肝疾患バイオマーカーの高感度 蛍光検出

Fluorescent detection of biomarker protein by molecularly imprinted cavities bearing orthogonal interaction sites

神戸大院工¹ 森重 貴裕¹, °高野 恵里¹, 砂山 博文¹, 北山 雄己哉¹, 竹内 俊文¹

Kobe Univ.¹, Takahiro Morishige¹, °Eri Takano¹, Hirobumi Sunayama¹, Yukiya Kitayama¹,

Toshifumi Takeuchi¹

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

α -Fetoprotein (AFP)は肝臓がんを含む肝臓疾患のバイオマーカーとして知られている糖タンパク質であり、AFP の高感度検出は、肝臓がんの早期診断に有用である。一方、分子インプリントポリマー(MIPs)は、標的分子に対する三次元認識空間を構築した人工分子認識材料であり、その化学的な安定性と測定 of 容易さから、抗体などの生体由来分子に代わる認識素子として注目を集めている[1]。MIPs は、鋳型分子と、その分子と相互作用する部位をもつ機能性モノマーの複合体、コモノマーおよび架橋剤を共重合し、最後に鋳型分子を取り除くことで得られる。さらに、当研究室では分子認識空間内選択的修飾法であるポストインプリンティング修飾法 (PIM) を開発し、重合後修飾による MIPs の高機能化に成功している[2,3]。

本研究では、肝疾患関連腫瘍マーカー α -fetoprotein (AFP)を標的分子とし、AFP がもつ糖鎖を認識するボロン酸と、負電荷や疎水性アミノ酸残基と相互作用可能な pyrrolidyl 基を同一分子認識空間内に配置し、AFP を多点で認識可能な AFP インプリント空間を構築した[4]。さらに、PIM により AFP インプリント空間内のみに選択的に蛍光性レポーター分子を導入し、AFP の結合情報を高感度に蛍光で検出可能な MIP 薄膜の創製を行った。

得られた MIP 薄膜の AFP 結合特性を表面プラズモン共鳴 (SPR)測定および蛍光顕微鏡を用いた蛍光測定によって評価したところ、AFP 特異的な吸着挙動が見られ、蛍光検出においては 10 pM の AFP が検出可能であった。また、ブロッキング処理によって MIP の認識空間外への非特異吸着を抑制させることで、1%の血清溶液中においても高感度・高選択的に AFP を検出することに成功しており、糖鎖と可逆的共有結合を形成可能なボロン酸と、アミノ酸残基と相互作用可能な官能基を鋳型空間内に配置した、結合情報発信能をあわせもつ多点認識インプリント空間により AFP を高感度検出可能であることがわかった。

[1] Takeuchi, T. et al. *Chromatography* **2016**, 37, 43-64

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

[3] Takeuchi, T. et al. *Chem. Commun.* **2016**, 54, 6243-6251 (Feature article)

[4] Morishige, T. et al., *ChemNanoMat.* **2019**, 5 (2), 224-229.