

動的保護と多段階ポストインプリング修飾による 高機能タンパク質インプリント空間の創製

Highly functional protein imprinted polymers prepared by multi-step post-imprinting
modifications with dynamic protection

神戸大院工¹ ◦砂山 博文¹, 竹内 俊文¹

Kobe Univ.¹, ◦Hirobumi Sunayama¹, Toshifumi Takeuchi¹

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

人工高分子内に標的分子に対して相補的な結合空間を作り出す分子インプリングは、分子認識材料、MIP を簡易・安価に作製できる手法として注目されている。しかし、抗体に匹敵するような親和性や選択性の報告例は少ない。これは分子インプリングの“混ぜて固める”というシンプルな作製法ゆえに、高親和性と低親和性の結合空間が混在しており、非特異的な吸着を誘起することで MIP の性能を低下させている。この問題を解決するために、我々は、MIP 合成後、後天的な高機能化を行うための新たな「分子認識空間選択的」ナノ加工技術、ポストインプリング修飾法(PIM)を開発した[*Chem. Commun.*, **2018**, 54, 6243]。

本研究ではこの PIM を駆使することで、低親和性結合空間の無効化による標的選択性の増強を試みた。MIP 合成後に切断することで PIM が可能となるジスルフィド結合を有する機能性モノマーを合成し、これを用いてモデルタンパク質 Lysozyme(Lyso)の MIP を作製した(Fig.1A①)。この MIP に還元剤を反応させることでジスルフィド結合を開裂させた(Fig.1A②)。そこに高親和性の結合空間を動的に保護するため、低濃度の Lyso を添加した(Fig.1A③)。この状態で保護されていない低親和性結合空間内のチオール基にエチレングリコール基を導入し、低親和性結合空間を無効化した(Fig.1A④)。Lyso を洗い出して高親和性結合空間を再生し(Fig.1A⑤)、残存するチオール基に Lyso に相互作用するカルボン酸を導入し、Capped-MIP を得た(Fig.1A⑥)。

PIM 前後でのタンパク質結合特性を表面プラズモン共鳴測定装置で評価したところ、PIM 後に非標的タンパク質の吸着が大きく抑制された(Fig.1B)。すなわち、PIM により低親和性結合空間を無効化することにより、MIP の選択性を格段に向上させることに成功した。本法は、原理的にすべての MIP に適用可能で、本研究により MIP の高機能化をもたらす画期的な方法論が確立された。

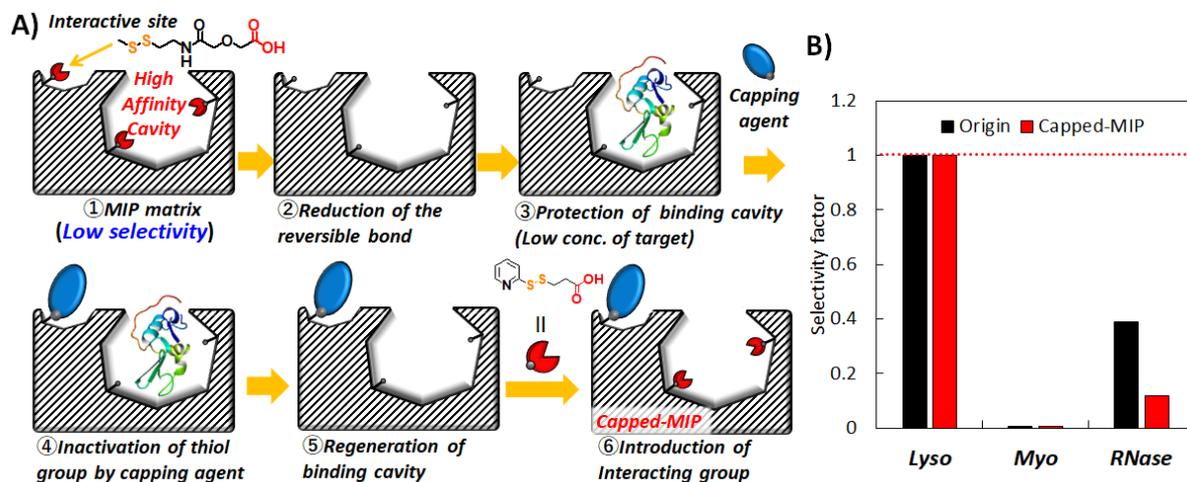


Figure 1. Schematic illustration of multi-step post-imprinting modification with dynamic protection of high affinity cavity (A), selectivity test of original MIP and capped MIP (B).