

複数のアミノ酸を同時分析可能なペーパーデバイスの開発

(広島市大院情報) ○河村 星・釘宮 章光

Development of microfluidic paper-based analytical device for several amino acids (*Graduate School of Information Sciences, Hiroshima City University*) ○Akari Kawamura, Akimitsu Kugimiya

Balances of 20 kinds of free amino acids concentration in blood serum of healthy person is kept constant, but that of invalid person is changed in disease states, such as cancers, hepatic diseases and diabetes. Therefore, the multiple disease states could be evaluated by measuring the concentrations of 20 kinds of amino acids.

We have reported the method of measuring the concentration of each amino acid using aminoacyl-tRNA synthetase (aaRS) as the molecular recognition element [1]. In this study, the enzymatic reaction conditions for the detection of amino acid, histidine, was investigated.

Each reaction solution containing 100 μM histidine, 45.9 μM histidine-binding aaRS, 0–40 mM adenosine triphosphate (ATP), and 0–100 mM magnesium chloride (MgCl_2) in 200 mM Tris-HCl buffer solution (pH 8.0) was heated at 80 $^{\circ}\text{C}$ and colorimetric detection at 800 nm was performed based on the molybdenum blue reaction subsequently. As a result, histidine was measured highly sensitively at the concentrations of 40 mM ATP and 50 mM MgCl_2 (Fig. 1). By using these conditions, from 1 to 150 μM histidine could be measured selectively.

Keywords : Amino acids; Biosensor; Aminoacyl-tRNA synthetase

健康な人の血液中のアミノ酸濃度バランスは一定に保たれているが、各種がんや肝臓病などの病態によってそのバランスが変動するため、20種類のアミノ酸濃度を計測することにより複数の病気の同時診断が可能である。

我々は、アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) の分子認識能を用いて 20 種類のアミノ酸濃度を選択的に計測する方法の開発を行っている [1]。本研究では、アミノ酸の一種であるヒスチジンについて高感度かつ選択的に計測できる条件を検討した。

100 μM ヒスチジン、45.9 μM ヒスチジン結合性 aaRS の HisRS、アデノシン三リン酸 (ATP)、塩化マグネシウム (MgCl_2) を含む 200 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0) を反応溶液とし、ATP と MgCl_2 の濃度を 70 通りの組み合わせで加え、呈色液を加えて 800 nm の吸光度を計測することで結合能の評価を行った結果、40 mM ATP、50 mM MgCl_2 を添加した時に高い応答性を示し (図 1)、1~150 μM のヒスチジンが選択的に定量可能であることを示した。

[1] Akimitsu Kugimiya, *Precision Medicine*, **4**, 55-59 (2021).

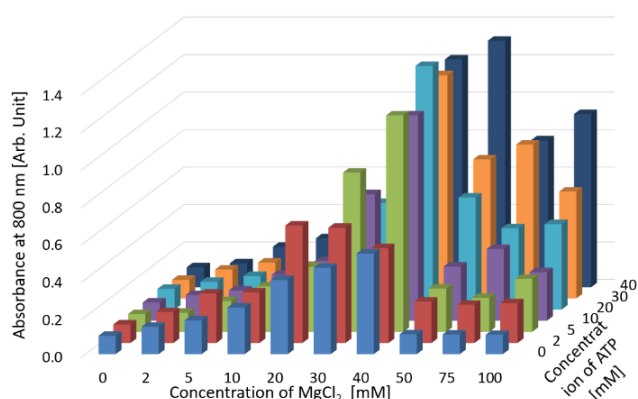


図 1 HisRS 反応における ATP と MgCl_2 の添加量の検討