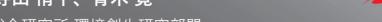
糖鎖高分子を分子認識素子とした SPRI バイオセンシング

SPRI-Biosensing using Glycopolymer as a molecular recognition part

○寺田 侑平、青木 寛





産業技術総合研究所 環境創生研究部門

1 Introduction & Background (Biosensor, Glycopolymer [GP], Surface Plasmon Resonance [SPR])

これまでのバイオセンサー開発

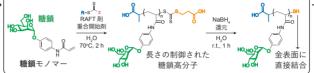


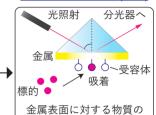
糖鎖高分子 (GP)…糖鎖を側鎖に提示した人工材料

抗体・天然糖鎖の場合 糖鎖高分子の場合

・高価、材料が不安定 ・安価な材料で合成、刺激に安定 ・nm オーダーの精密制御が可能 ・表面修飾が困難

可逆的付加開裂連鎖移動 (RAFT) 重合…分子鎖長を制御可能

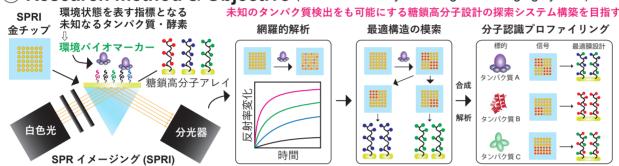


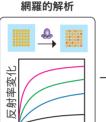


表面プラズモン共鳴 (SPR)

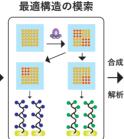
吸着を屈折率変化として ラベルフリーで捉える

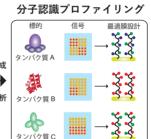
(2) Research method & Objective (Exhaustive analyses using SPR imaging system)





時間

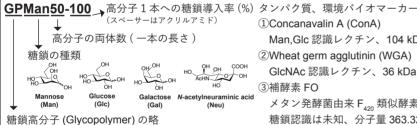






(4) Results & Discussion, Conclusion (SPRI exhaustive analyses of biological interaction on Au spots)

本研究における糖鎖高分子の表記および使用タンパク質・



糖鎖種類の違いに対する検討

300

ConA conc. [nM]

最も短い GP20-100 のみ他に比べて

SPRI 応答が小さかった

20

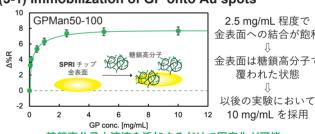
①Concanavalin A (ConA)

Man,Glc 認識レクチン、104 kDa

②Wheat germ agglutinin (WGA) GlcNAc 認識レクチン、36 kDa

メタン発酵菌由来 F₄₂₀ 類似酵素 糖鎖認識は未知、分子量 363.32

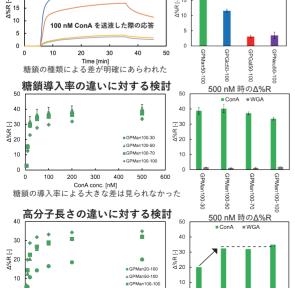
(3-1) Immobilization of GP onto Au spots



2.5 mg/mL 程度で 金表面への結合が飽和 Л 金表面は糖鎖高分子で 覆われた状態

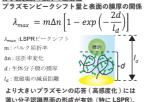
糖鎖高分子水溶液を添加するだけで固定化が可能

(3-2) SPRI measurement of lectin adsorption onto GP surfaces



ConA を認識する Man および Glc が導入された糖鎖高分子に 対してのみ大きな SPRI 応答が 観測された。Man の方が Glc と 比較して 2 倍の変化量を示した ⇒ConA の糖鎖特異的な吸着が 本バイオセンシングシステムに よって示唆された。

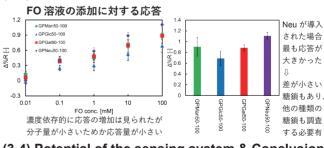
Man の導入率に関係なく同等の SPRI 応答が観測された。また、 GIcNAc 認識レクチン WGA に 対しては SPRI 応答は見られず Man が導入された糖鎖高分子の ConA 特異的な認識を達成した。 高分子鎖長が長い場合、糖鎖の 局所的な集積化が有効となる。



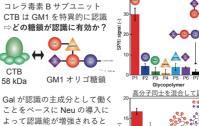
⇒本システムでは長い糖鎖の方が強力な分子

認識能を達成⇒糖鎖クラスター効果の寄与

(3-3) Detection of Environmental Biomarker



(3-4) Potential of the sensing system & Conclusion 糖鎖 1 種類の高分子



コレラ毒素に対する検討

明らかになった

糖鎖は単体での認識は微弱で

あっても協働的に働くことで 認識能を大幅に増強する

⇒認識の主成分および協働的に

高分子同士を混合して固定

2 種類の糖鎖が適切な距離に あって初めて強い認識を達成

働く糖鎖の探索が鍵となる 協働的な糖鎖の作用を促す糖鎖高分子設計が存在する可能性は大きい