2A1-C3 Handy-SPR(表面プラズモン共鳴)を用いたタンパク質の解析

Analysis of protein using Handy-SPR (Surface Plasmon Resonance)

○金澤 将史, 飯塚 元気, 綾野 絵理, 金澤 秀子

秋山 義勝*, 菊池 明彦*, 岡野 光夫*

共立薬科大学大学院 創薬物理化学講座

*東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

Masahito Kanezawa, Genki Iizuka, Eri Ayano, Hideko Kanazawa

Department of Physical Chemistry, Kyoritsu University of Pharmacy.

Yoshikatsu Akiyama*, Akihiko Kikuchi*, Teruo Okano*

*Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University.

【目的】 ポストゲノムの時代を迎え、タンパク質の機能解析、特に生体分子間相互作用の解析などの研究が盛んに行なわれている。中でも試料のラベル化が不要であり、リアルタイムに測定が可能であるSPR(表面プラズモン共鳴)が注目されている。表面プラズモン共鳴 (SPR) は、金属表面の励起状態である表面プラズモン波を光で共鳴励起する現象である SPR 現象を利用し、センサ表面近傍で起こる媒質の変化を屈折率の変化として測定する屈折率測定法である。SPR 現象は、金属表面から約 200nm 領域の屈折率変化によって起こる微小な変化でも観測可能である。現在、SPR を利用したバイオセンサ型の分析装置が開発され、免疫測定、蛋白吸着現象の測定などの基礎研究分野で利用されている。本研究では特定のイオンや分子を認識する官能基を末端にもつ自己組織単分子膜を作製し、金表面へ導入した。その金表面により、小型化かつ流路を介した SPR 装置を用いて、選択的に分子間相互作用を検出する新しいシステムの構築を試みた。本システムの構築により、安価で簡便に利用できる SPR 装置として、環境ホルモンなどの河川水質調査、食品安全検査、医療などの現場での利用の幅が広がることが期待される。

【実験】 特定のイオンや分子を認識する官能基を末端にもつ自己組織単分子膜 (SAM (Self Assembled Monolayers)) を作製した。金を蒸着させたガラスチップを Piranha 溶液で洗浄し、16-メ

ルカプトヘキサデカン酸溶液で浸した後、表面のカルボキシル末端をN-ヒドロキシスクシイミドで活性化させ、ポリアリルアミン、無水コハク酸などで順次修飾をしていき金表面にSAMを構築した。そのチップを用いて、Handy-SPR でタンパク質の測定を行なった。

【結果・考察】 流路を介した Handy-SPR 装置を用いて、グルコースの濃度差による変化を測定した。その結果、濃度によって減衰カーブ変化を確認することができた。また金表面に修飾したSAMの評価をSPR装置を用いて行なった。今回作製したチップにアミンカップリング法を用いてリゾチームを固定化し、抗リゾチームを流すと、共鳴角は大きい方へシフトするのを確認できた (Fig.1)。これは、金表面に分子 (抗リゾチーム) が吸着し、金近傍の屈折率が増加したものと考えられる。今後はさらにリガンドや試料の濃度や、他の機能性タンパク質や抗原抗体などの分析を行うための条件設定等を検討する予定である。

Fig.1 Interaction between lysozyme and anti-lysozyme