

表面プラズモン共鳴センサのための DNA コンジュゲートを利用する抗体固定化法

九州大学工学府化学システム工学専攻 本 明紘

近年、医療診断、食品安全性、防衛、環境モニタリングなどの広い分野において、多数の目的成分を同時に検出し、その濃度レベルまで測定できるマルチチャンネルバイオセンサの必要性が増している。マルチチャンネルバイオセンサの開発の重要な課題の一つは、センサチップ表面上に多数の分子認識素子（たとえば抗体など）をパターンニングして固定化する技術の確立である。タンパク質固定化法として、一般にプロテイン A、ビオチン/ストレプトアビジンブリッジ等などもつ特異的な相互作用を利用する方法が知られている。このような方法は、単一成分を測定するシングルチャンネルセンサに対しては適用されているが、多成分を測定するためのマルチチャンネルセンサに応用するには、センサ表面へのパターンニング処理が必要である。

従来のパターンニング処理ではセンサチップの乾燥等によりタンパク質の活性の低下が起こるなどの問題点がある。この問題点を克服するため、Boozerら[1]は DNA ハイブリダイゼーション特性を利用した抗体固定化法を開発されている。すなわち、金薄膜上に一本鎖 DNA 単分子膜を作製し、この DNA と相補鎖をなす一本鎖 DNA に目的の抗体を結合した一本鎖 DNA コンジュゲートを金薄膜上でハイブリダイゼーションさせることにより、抗体を固定化して表面プラズモン共鳴 (SPR) センサに応用している。この固定化法を Fig. 1 に示す。センサチップ上に固定したい抗体(X, Y)の種類に応じて、異なる塩基配列の DNA (A, B) を用いることにより複数の抗体（分子認識素子）をセンサチップ表面に特異的に、配列して固定化することができる。あらかじめ定められた抗体を固定化したセンサチップは、抗体に対応する一種の抗原の測定にしか適用できないのに対して、Boozer らの方法では、DNA チップと同様にして、タンパク質コンジュゲートをアレイ状に固定化することができる利点を有している。また、二本鎖 DNA は加熱等により一本鎖に戻すことができるので、チップの再生ができるなどの利点がある。さらに、センサチップは一本鎖 DNA を固定化した状態で保存し、使用の際に抗体-DNA コンジュゲートをハイブリダイゼーションして、抗体をセンシング部分に固定化するので、抗体の活性

を低下させることがない。Fig. 2 には、実際に疾病診断に用いられる 3 種類の性腺刺激ホルモン (hLH, FSH, hCG) に対する抗体を固定化したセンサチップを利用して、それぞれの目的成分を SPR センサで同時に測定した結果を示す。このように、DNA の特性を利用して固体基板にナノ粒子 [2]、タンパク質 [3]、ポリペプチド [4]などを固定化する方法も開発されている。ここで、紹介した固定化法は、FIA 法や SIA 法などの流れ分析法のマイクロチャンネル SPR センサ検出への応用が期待できる。

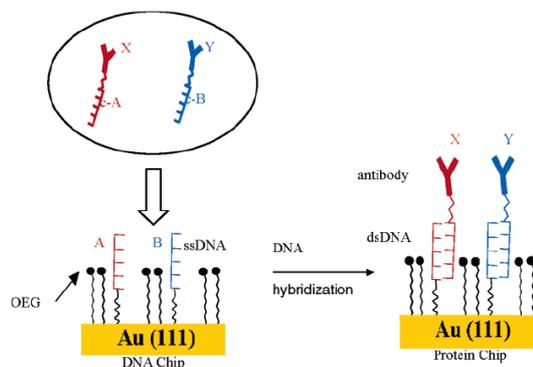


Fig. 1 DNA による複数の抗体の固定化の概念

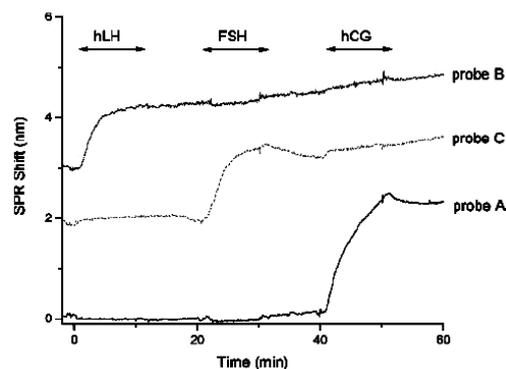


Fig. 2 固定化した抗体による抗原の検出

- [1] C. Boozer, J. Ladd, S. Chen, S. Jiang, *Anal. Chem.*, **78**, 1515-1519, 2006.
- [2] C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature*, **382**, 607-609, (1996).
- [3] C. M. Niemeyer, *TRENDS Biotechnol.*, **20**, 395-401, 2002.
- [4] S. Weng, K. Gu, P. W. Hammond, P. Lohse, C. Rise, R. W. Wagner, M. C. Wright, R. G. Kuimelis, *Proteomics* **2002**, **2**, 48-57.