

平成23年度特別経費（プロジェクト分）
「香川グライコリソース（希少糖・ヒト型糖鎖）を用いたナノ糖質生命科学研究推進事業」
研究グループ別研究成果報告書

（本報告書は、必要に応じてホームページ上で公開しますので、知的財産に関連する記述等については注意してください。）

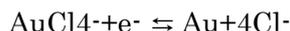
研究組織			
研究グループの組織について記述してください。メンバーは教員ばかりでなく、本研究に携わっている非常勤職員・学生も記載してください。			
研究課題名	バイオセンシング技術を用いた解析とバイオセンサ開発		
グループリーダー	氏名	所属・職名	連絡先
	宮西 伸光	総合生命科学研究センター・客員准教授	e-mail
			本人
秘書等	miyanishi@toyo.jp		
メンバー	氏名	所属・職名 (学年)	分担事項・役割等
	大平 文和	微細構造デバイス統合研究センター（工学部）・教授 (~H23.9) 香川大学理事 (H23.10~)	センサチップ表面における新規微細加工技術の提案・デザイン
	高尾 英邦	微細構造デバイス統合研究センター・准教授	微細加工技術の指導
	寺尾 京平	工学部・助教	センサチップ表面における新規微細加工技術の提案・デザイン
	長瀬 紀子	大学院工学研究科 (M2)	センサーチップの金黒形成技術

平成 23 年度研究成果概要

研究成果概要についてわかりやすく記載してください。できるだけ、図を挿入してください。すでに当該年度に外部に発表を行った成果については、研究業績欄の業績番号と対応させてください。

① 微細加工技術を用いたバイオセンシングチップの高感度化

本研究では、SPR センシングの感度向上を目的とし、センサチップの表面積を増加させることで検出物のセンサチップへの結合量を増加させる手法を提案した。SPR センシングチップにおける微細加工法として、センサ表面に広く用いられる金に着目し、フラットな金表面に電気化学的に金を堆積させることにより金ナノ構造を製作し(以降金黒めっきと呼ぶ)、電位・堆積時間をパラメータとしてナノ構造の形状、大きさ、表面積を制御する事に成功した。金黒メッキは以下の反応から成る電気化学的堆積法により形成した。



本研究では、三電極法により金黒めっきを行い、電流と印加時間を操作することで金黒めっき構造が変化することを確認した。また、通常使用される SPR センシングチップ(以降フラットチップ)は金薄膜の厚さが約 50 nm という制約がある。そのことから、下地金属の厚さが 25 nm, 15 nm の 2 種類の条件のチップに金黒めっきを行った。金薄膜 25 nm に金黒めっきを施行したチップを AB1 とし金薄膜 15 nm に金黒めっきを施行したチップを AB2 とする。フラット, AB1, AB2 の各チップの表面積比を CV 測定法により評価した結果を図 1 に示す。また、BSA の検出実験を行い、検出部の表面積増加によるセンサ感度向上を検証した。センサ感度評価は、センサ表面に BSA 抗体を固定化し、BSA 抗体と特異的に結合する BSA の結合量を計測することにより行った。図 2 に BSA 抗体固定化量, 図 3 に BSA 検出量を示す。これらの結果より、表面積増加量に対応して BSA 抗体の固定化量、BSA の検出量が増加することが分かる。これより、金黒めっきによる SPR チップの表面積増加により、BSA の検出量の増加による感度向上の可能性が示された。

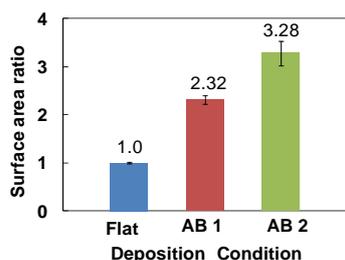


図 1 CV 測定結果

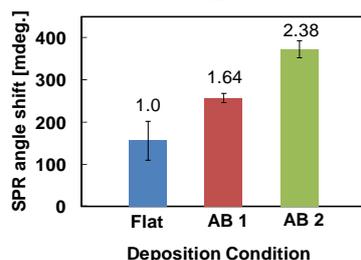


図 2 BSA 抗体固定化量

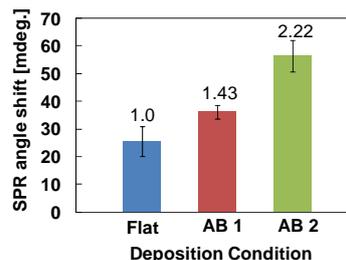


図 3 BSA 検出量

② ガレクチン・糖化タンパク質の相互作用解析 (西グループとの共同で実施)

ガレクチン 3 は、糖化タンパク質の種類を明確に認識するが、一方で β ガラクトシド結合レクチンとしての特性も有している。そこで、 β ガラクトシド認識レクチンファミリーである、他のガレクチンについて、糖化タンパク質との相互作用の確認をおこなった。その結果、ガレクチン 1 およびガレクチン 4 は、糖化タンパク質の一つである Glyceraldehyde-AGE を認識する事はできなかった。一方、ガレクチン 8 およびガレクチン 9 は、相互作用を認識する事が確認された(図 4)。本結果は、現在、論文投稿とともに、7 月に開催される 26th International Carbohydrate Symposium にて発表予定である。

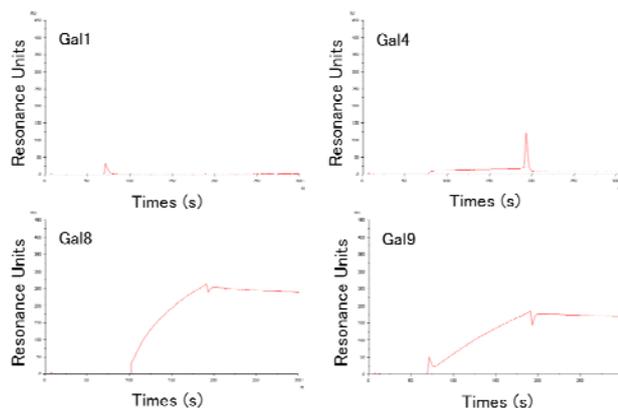


図 4 ガレクチンファミリーと Glyceraldehyde-AGE の相互作用

今後の研究計画

平成 23 年度に得られた研究成果を踏まえ、今後の研究計画について具体的に記載してください。図を挿入してもかまいません。

バイオセンサチップ表面の微細加工については、今年度得られた金黒チップをさらに高感度化する目的で、より表面積を増加させる新たな金メッキ手法の開発に取り組むとともに、様々な生体試料の検出への適用と評価を進める計画である。

ガレクチン・糖化タンパク質の相互作用解析については、ガレクチン 3 の糖化タンパク質認識機構と、ガレクチン 8 およびガレクチン 9 の糖化タンパク質認識機構の詳細について検討するとともに、引き続きガレクチンを用いた AGE 認識システムを用いたバイオセンサの開発を進める。

特記すべき事項

本研究に関する受賞（学生対象の賞も含む）・プレスリリース・大型外部資金獲得につながった等、特記すべき事項があれば記述してください（ささいなことでもかまいません）。本欄は必須ではありませんので、「該当なし。」でも可ですが、できるだけ記載してください。

第 24 回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会（2011/11/17～11/18、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス）において、下記の学生による発表が優秀ポスター賞を受賞した。

○長瀬紀子、垣田千洋、寺尾京平、宮西伸光、鈴木孝明、高尾英邦、下川房男、大平文和：金黒めっき法による金ナノ構造の形成と表面化学センサの高感度化への応用、第 24 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、2011/11/17～11/18、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス、学术交流会館

研究業績

本研究に関連した、平成 23 年度中の発表した、[1] 査読がある原著論文 (Corresponding Author には*印を付す。), [2] 著書, [3] 招待講演, [4] 学会発表 (発表者には○印), [5] 産業財産権 (特許等), [6] その他 (プロシーディング, 査読がない論文, 投稿記事等) を通し番号を付して記入してください。本事業の参加者にはアンダーラインを引いてください。記入欄が足りない場合は、用紙を追加してください。

[1] 査読がある原著論文

1. K. Terao*, C. Kakita, N. Nagase, N. Miyanishi, T. Suzuki, H. Takao, F. Shimokawa, F. Oohira, “Evaluation of Electrodeposited Gold Nanostructures for Applications in QCM Sensing” Analytical Sciences, in press.

[2] 著書

該当無し

[3] 招待講演

該当無し

[4] 学会発表(○は発表者)

2. ○N. Nagase, K. Shimizu, N. Uchiyama, K. Tamai, K. Terao, T. Suzuki, F. Oohira : Surface Plasmon Resonance Sensing by Electrodeposited Au Nanostructures for Sensitivity Enhancement, The 6TH International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology, 2011/5/4~5/6, Lucerne ,Switzerland

3. ○N. Nagase, K. Shimizu, N. Miyanishi, S. Shimamoto, K. Terao, T. Suzuki, F. Oohira: Size-Exclusion Surface Plasmon Resonance Sensing with a Microslit Array Chip, The ASME-JSME-KSME Joint Fluids Engineering Conference 2011 (AJK2011-FED), 2011/7/24-29, Hamamatsu, Japan.

4. ○N. Miyanishi, A. Hoshino, N. Nishi, S. Nakakita, J. Hirabayashi, S. Kamitori: What is real target of galectin-3?, XXI International Symposium on Glycoconjugate (GLYCO21), 2011/8/21-26, Vienna, Austria.

5. ○宮西伸光, 星野尾麻子, 西望 : 生活習慣病を予測するバイオセンサの開発、食品分析研究会, 2011/9/14, 東京都千代田区、アルカディア市ヶ谷 (私学会館)

6. ○長瀬紀子, 垣田千洋, 寺尾京平, 宮西伸光, 鈴木孝明, 高尾英邦, 下川房男, 大平文和 : 金黒めっき法による金ナノ構造の形成と表面化学センサの高感度化への応用、第 24 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 2011/11/17~11/18, 大阪府立大学中百舌鳥キャンパス、学術交流会館
【優秀ポスター賞受賞 2011.11.18】

[5] 産業財産権 (特許等)

7. 特願 2011-093403 「糖質認識分子を用いた生活習慣診断法の開発」 発明者 : 宮西伸光

[6] その他 (プロシーディング, 査読がない論文, 投稿記事等)

該当無し