

平成25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。）

<b>研究組織</b>			
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	東洋大学食環境科学部・准教授	TEL
			e-mail
本人	miyanishi@toyo.jp		
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	香川大学理事（H25.9） 社会連携・知的財産センター・教授 (H25.10～)	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・准教授	センサチップ表面における新規微細加工技術の提案・デザインとセンサチップの物理モデル作成
	平松 真一	大学院工学研究科 (M2)	微細構造バイオセンサチップの測定限界の検討と感度向上に向けた取り組み

## 平成25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 微細構造バイオセンサチップの測定限界の検討と感度向上に向けた取り組み

微細構造によってフィルタ機能を付加した SPR バイオセンサチップについてこれまで開発に取り組んできた。本年度はその計測限界の検討とさらなる感度向上に向けた基礎的検討を行った。

血中の微量ながんマーカーである AFP を対象に、従来の SPR センサチップと比較しながら計測を行い、10 mg/ml が検出可能な最低濃度であることが示された。これは原発性幹細胞がんの検査閾値 400 ng/ml に遠く及ばないことから、本センサチップの健康分野への応用のためには、さらなる感度向上が必要であることが明らかになった。そこで、感度向上を目的として、1) 微細構造の設計値の検討、2) 2次抗体、3次抗体によるシグナル増幅、3) マイクロ流路によるドリフト改善に取り組んだ。その結果、血中の正常値に近い AFP 50 ng/ml の検出が達成された (図1)。

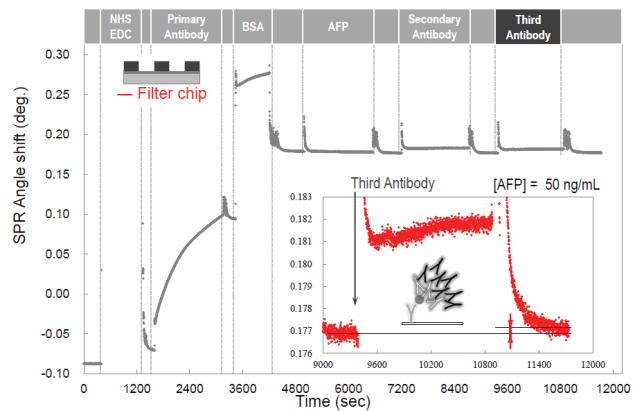
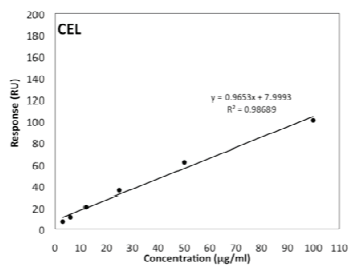


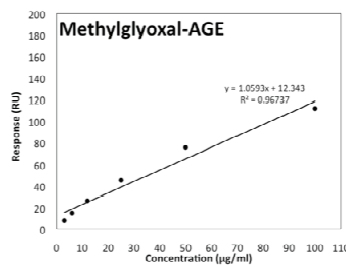
図1 AFP イムノアッセイ

### 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)

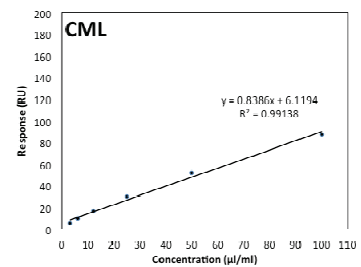
昨年度の研究において、種々の AGE に対するガレクチン1、4、8、9の特異性解析を試みた結果、ガレクチン1およびガレクチン4は AGE に対して殆ど親和性を示さず、ガレクチン8およびガレクチン9は高い相互作用を示し、さらに両者において、その特異性が著しく異なっている事を明らかにした。本年度ではガレクチン3、8、9がそれぞれ最も特異性を示した AGE をターゲットとしたバイオセンサとして検量線を作成した。その結果、いずれも高感度・高精度で検出できる事が明らかとなった (②-図1~②-図3)。さらに、綿羊血を用いた実サンプル前処理試験では、添加した AGE の差異を検出する事に成功した (②-図4)。



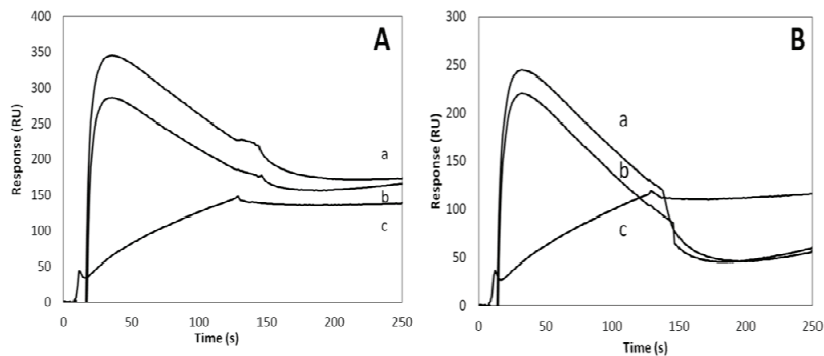
②-図1 Gal-3を用いたCarboxyethyl-lysine検出



②-図2 Gal-9を用いたMethylglyoxal-AGE検出



②-図3 Gal-9を用いたCarboxymethyl-lysine検出



②-図4 Gal-3を用いた前処理検討結果

(A) Ficoll-Paque有り a.CEL b.control c. asialofetuin (1.5 µg/ml)  
 (B) Ficoll-Paque無し a.CEL b.control c. asialofetuin (1.5 µg/ml)  
 (血液は綿羊血を用い、リガンドはガレクチン-3、アナライズはCELを用いた。)

## 今後の展望

本事業期間内（平成22-25年度）に得られた研究成果を踏まえ、今後の研究発展の展望について記載してください。図を挿入してもかまいません。

今年度、バイオセンサチップの測定限界の検討と感度向上に取り組み、健康分野での応用の可能性を示した。今後は、本センサチップの応用面での有用性の実証を引き続き進めると共に、センサチップの高機能化に取り組み、従来のサイズによる分離機能だけではなく、検出対象の生体分子の電気的特性の違いによる分離機能を有した新たなバイオセンサチップの開発を進める計画である。この新機能が実現されることにより、低濃度・小分子の検出、測定データ数の増加が期待でき、検出対象を広げることが可能になると期待される。

センサ素子として採用するガレクチン-3における、様々な構造のAGEとの相互作用の詳細な結合特性を解析し、ガレクチン-3が特定の構造を有するAGEと特異的に相互作用する事を明らかにした。この事は、ガレクチン-3を用いたAGE測定用バイオセンサ構築において重要な情報であるとともに、生物学的機能性を明らかにする上でも非常に大きな知見であった。本研究の継続的展開として、新たにAGE結合活性が認められたガレクチン-8およびガレクチン-9に関して、より詳細な結合特性解析を進めるとともに、ガレクチン-3とAGEの相互作用ガレクチン-3との相互作用をモニタリングする事によって、様々なAGE関連疾患を診断する事ができる様に、論文等による疫学的調査情報収集などを行い、ガレクチン-3の結合特性とAGEの構造との構造機能相関の分子化学的な詳細をさらに明らかにする事が重要である。

## 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。

日本の代表する見本市であるイノベーション・ジャパン2013において以下の発表が審査を通過し、採択された。

「生活習慣病をモニタリングするための基本技術開発」2013.8.29-30.（東京ビッグサイト・江東区）（審査有）

## 研究業績

本研究に関連した,平成25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

[2] 著書

宮西伸光、「生体内の AGE をモニタリングして生活習慣病予防」、コンバーテック（加工技術協会）No. 488, pp17, 2013.

宮西伸光、「バイオセンサの先端科学技術と新製品への応用開発」技術情報協会 編 in press.

[3] 招待講演

[4] 学会発表(○は発表者)

[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)

宮西伸光、中北慎一、住吉渉、大熊廣一、平林淳、「糖質のバイオセンサで生命を垣間みる」(解説)、化学と工業(大阪市立工業研究所 編) in press.