

平成22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

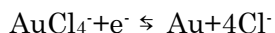
研究組織			
研究グループの組織について記述してください。メンバーは教員ばかりでなく、本研究に携わっている非常勤職員・学生も記載してください。			
研究課題名	バイオセンシング技術を用いた解析とバイオセンサ開発		
グループリーダー	氏名	所属・職名	連絡先
	宮西 伸光	総合生命科学研究センター・客員准教授	e-mail
メンバー	氏名	所属・職名 (学年)	分担事項・役割等
	大平 文和	微細構造デバイス統合研究センター（工学部）・教授	センサチップ表面における新規微細加工技術の提案・デザイン
	高尾 英邦	微細構造デバイス統合研究センター・准教授	微細加工技術の指導
	寺尾 京平	工学部・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
	垣田 千洋	大学院工学研究科（M2）	センサーチップの微細加工・解析・評価
	長瀬 紀子	大学院工学研究科（M1）	センサーチップの金黒形成技術

平成 22 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。なお、本欄は、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。

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

バイオ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(以降金黒メッキと呼ぶ)、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、Ag/AgCl 参照電極と、Pt 対電極から成る三電極法により金黒メッキを行ったが、印加電圧と印加時間を操作する事によって初めて特徴的なピラミッド型形状のナノ構造が得られた。

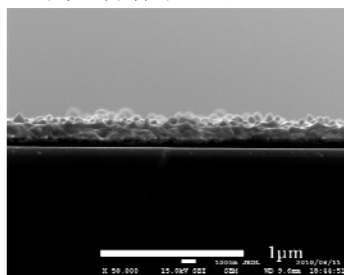


図1 -0.5V, 10 sec

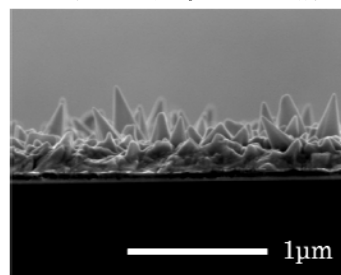


図2 -0.5V, 50 sec

金黒メッキ技術を QCM センサに用いる水晶振動子に応用することにより、検出部の表面積増加によるセンサ感度向上を検証した。測定は QCM フローセル、HPLC ポンプを用いたフロー系により行った。

センサ感度評価は、センサ表面に ProteinA を固定化し、ProteinA と特異的に結合する IgG との結合量を計測することにより行った。QCM では、センサ表面に吸着した試料の質量に依存して共振周波数がシフトする。図3より、金黒メッキチップによる QCM 測定では、共振周波数のシフト量がフラットチップのシフト量より増加していることより、IgG の結合量が増加することが分かる。これより、金黒メッキによる検出部表面積増加により、IgG の検出量の増加による感度向上の可能性を示した。

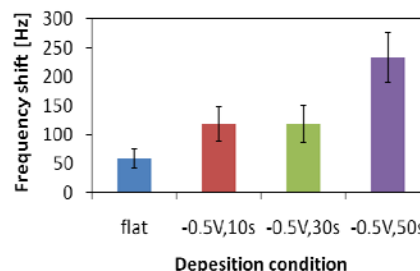
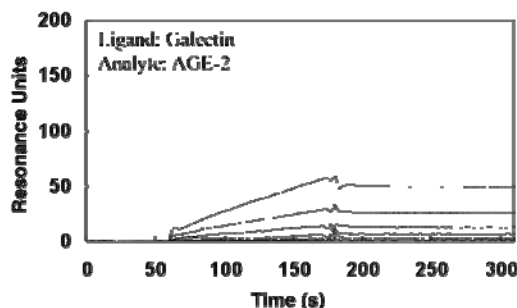
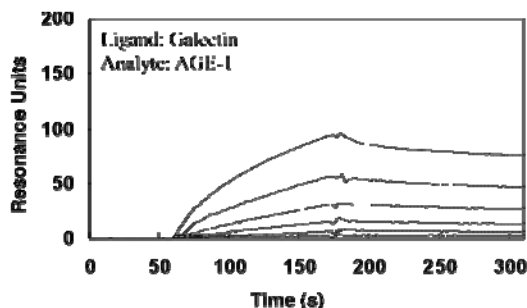


図3 QCM測定結果

② ガレクチン・糖化タンパク質の相互作用解析 (西グループと共同で実施)

ガレクチン3が、バイオセンサ素子として有用可能であるかどうかを確認するために、ガレクチン3の固定化および結合特異性解析を行った結果、ガレクチン3の糖鎖分子認識機構の解析では、糖化したタンパク質の単糖部分の分子構造が重要である事が明らかとなった。また、ガレクチン3



と Au チップとの固定化には炭素数5のスペーサーが最適であった。現在、論文投稿とともに、5月に開催される国際学会(Microtechnologies in Medicine & Biology)に登録済である。本年度において、希少糖を分析するバイオセンサの開発にも成功しており(研究業績#3, *Biosens. Bioelectron.*, Impact Factor 5.480)、これらの検出技術とガレクチン3を融合させ、特殊な糖や糖タンパク質を検出するバイオセンサの開発が期待できる。また、融合型バイオセンサ開発に関する報告を行った(研究業績#4~7)。

今後の研究計画

平成 22 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を用いた感度向上については、今年度得られた金黒メッキチップを用いてバイオセンサの構築を試みるとともに、表面微細構造と機能関連の詳細な解析に取り組む予定である。

ガレクチンを用いた糖化タンパク質の相互作用解析については、基本的な相互作用に付いて確認ができたので、引き続き、詳細な特異性解析を進める。

バイオセンサ構築については、分子改変したガレクチンを用いて、感度や特異性が向上を試みる。

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。

本研究で開発した金黒形成技術については、バイオセンシングに用いられる SPR チップ表面へ形成することが可能であり、これにより SPR 測定 of 感度向上への応用についても研究を開始している。

研究業績

本研究に関連した，[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。なお，本欄は，必要に応じてホームページ上で公開します。

[1] 査読がある原著論文

1. W. Sumiyoshi, S. Nakakita, K. Hasehira, N. Miyanishi, Y. Kubo, T. Kita, J. Hirabayashi., “Comprehensive analysis of N-linked oligosaccharides from eggs of the family Phasianidae.” Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. Vol. 74, (3), pp 606-613, 2010.
2. K. Hasehira, S. Nakakita, N. Miyanishi, W. Sumiyoshi, S. Hayashi, K. Takegawa, J. Hirabayashi., “A comprehensive HPLC analytical system for the identification and quantification of hexoses that employs 2-aminobenzamide coupling.” The Journal of Biochemistry. Vol. 147, (4), pp 501-509, 2010.
3. N. Miyanishi, S. Nakakita, W. Sumiyoshi, H. Okuma, J. Hirabayashi., “Development of D-allose sensor on the basis of three strategic enzyme reactions.” Biosensors and Bioelectronics. Vol. 26, pp 126-130, 2010.
4. 宮西伸光、中北慎一、住吉渉、平林淳、糖質関連分子とバイオセンサ、応用糖質科学, *in press* (2011).

[2] 著書

5. 宮西伸光「βグルカンの基礎と応用 -感染、抗がん、ならびに機能性食品へのβグルカンの関与-」“第9章 βグルカン分解酵素とその応用”（監修：大野尚仁・シーエムシー出版）
6. 宮西伸光、「化学工業 “特集／多糖の資源活用と機能探求” “糖質関連酵素とバイオセンサ”（2010. Vol. 61. No.12・化学工業社）

[3] 招待講演

該当無し

[4] 学会およびシンポジウム発表（○は発表者）

7. ○宮西伸光、中北慎一、住吉渉、平林淳：糖質関連酵素とバイオセンサ 第59回日本応用糖質科学学会大会（第18回糖質関連酵素化学シンポジウム）2010/09/17.
8. ○長瀬紀子、清水一範、内山昇、玉井一規、寺尾京平、鈴木孝明、大平文和：金黒形成SPRチップによるSPRセンシングの高感度化 第27回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, pp. 123 (2010). 2010/10/14-15, くにびきメッセ, 松江.
9. ○長瀬紀子、清水一範、内山昇、玉井一規、寺尾京平、鈴木孝明、大平文和：金黒形成SPRチップによるSPRセンシングの高感度化 High Sensitivity SPR Sensing by Au-Black Formed SPR Chip 第22回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, pp. 54 (2010). 2010/11/17-18, 名古屋大学附属病院, 名古屋.

[5] 産業財産権（特許等）

該当なし。

[6] その他（プロシーディング、査読がない論文、投稿記事等）

該当なし。