

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 6 日現在

機関番号：82626

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20106008

研究課題名（和文）3次元ナノ相分離膜構造と高感度分子認識能の動的解析

研究課題名（英文）Effective Protein Recognition on the Hybrid Organic Monolayer and its Dynamic Response Analysis

研究代表者

佐藤 縁 (SATO YUKARI)

独立行政法人産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・主任研究員

研究者番号：40357132

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：電気化学、糖、レクチン、自己組織化膜、金、表面プラズモン共鳴、ナノ相分離

1. 研究計画の概要

本研究では、生体分子認識部位を有する分子と非特異吸着抑制分子とで構成する複合単分子層の機能発現と、機能界面の新規評価法を提案し、実現することを目指している。横（水平）方向および垂直方向の3次元の構造制御を行い、分子認識に最適なナノ相分離単分子膜を構築し、生体分子間相互作用を高感度、高選択的に検出するための分子認識ソフトインターフェースを構築し、これまで均一な分子層に限られていた膜評価手法を、複合膜評価法へと展開していく。分子認識能が3次元ナノ相分離構造体で高感度化されるメカニズムについても検討を行う。

2. 研究の進捗状況

レクチン（タンパク質）と相互作用する糖鎖分子を各種設計、合成し、これとOH末端ならびに短鎖エチレングリコール基末端のアルカンチオール類（非特異吸着抑制分子・スペーサー分子）とで、金基板表面に対し1）水平方向および2）垂直方向の3次元の構造制御を行い、分子認識に最適なナノ相分離単分子膜を構築した。当該期間中では、新規に、（1）非特異吸着分子の設計と合成、（2）構成される単分子膜の緻密さ、（3）これによるレクチン認識効果の変化について詳細に検討した。糖鎖分子とスペーサー分子とで混合膜を構成した場合、100%糖鎖で構成される膜表面に比較して、糖鎖が低濃度（およそ20%前後）になるにつれて、レクチンの吸着量が上がる

こと、また、糖鎖の高さに対して、スペーサー分子が低い位置に押さえられている時にレクチン認識効果が高いことを実験的に証明した。最適条件下では、レクチンと糖の認識が単分子膜にも関わらず、1対1から多対1にできることをつかった。基板表面の電位を変化させることによりレクチン認識能の変化があることを予備的につかったが、これについては引き続き展開を図ることとした。金以外の材料の利用と修飾法・評価法検討については、引き続き行うこととした。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

抗原抗体反応などに比べて相互作用が（解離定数で）3桁以上も弱い、糖-レクチン間の相互作用についても、僅か一分子層で効率よくかつ高感度に捕らえることができる単分子層を作製できた。この技術を活かして、マーカー分子候補であるガレクチンの高感度検出にも成功した。

4. 今後の研究の推進方策

電気化学的な手法を糖-タンパク質の相互作用検出にさらに積極的に取り入れる。具体的には、糖鎖-タンパク質間の弱い相互作用であっても、電気化学的な操作により高感度化を図り、理想的には免疫系のように利用できるような系をモデル的に構築し、これを実証する。また、高感度認識における膜の柔軟性変化の関係を検討し、また、分子認識膜の電位変化と認識能の関係について明らかにする。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. T. Nishimura, Y. Sato,* M. Tanaka, R. Kurita, K. Nakamoto and O. Niwa, "Bifunctional tri(ethylene glycol) alkanethiol monolayer modified gold electrode for on chip electrochemical immunoassay of pg level leptin", *Anal. Sci.*, 印刷中、Hot Article, 表紙掲載決定済 (2011).
2. M. Tanaka*, T. Sawaguchi, Y. Sato, K. Yoshioka, O. Niwa, "Surface Modification of GC and HOPG with diazonium, amine, azide, and olefin derivatives", *Langmuir*, **27**, 170-178 (2011).
3. K. Yoshioka, Y. Sato,* T. Murakami, M. Tanaka, and O. Niwa, "One-step Detection of Galectins on Hybrid Monolayer Surface with Protruding Lactoside ", *Anal.Chem.*, **82**, 1175-1178 (2010).
4. K. Yoshioka, Y. Sato, M. Tanaka, T. Murakami, and O. Niwa,* "Suppression of Non-specific Adsorption Using Densified Tri(ethylene glycol) Alkanethiols: Monolayer Characteristics Evaluated by Electrochemical Measurements", *Anal. Sci.*, **26**, 33-37 (2010).
5. Y.Sato,* K. Yoshioka, M. Tanaka, T. Murakami, M.N. Ishida, and O. Niwa, "Recognition of lectin with high S/N ratio: carbohydrate- / tri(ethylene glycol)alkanethiol co-adsorbed monolayer", *Chem.Commun.*, 4909-4911 (2008).

[学会発表] (計 25 件)

1. Yukari Sato, Kyoko Yoshioka, et. al., "Sensitive and selective detection of lectins on hybrid monolayer surface with protruding carbohydrate group", Pacificchem 2010, Honolulu, U.S.A., December, 16, 2010.
2. Yukari Sato, et. al., "Galecin Recognition on the Carbohydrate and Tri(ethyleneglycol)-Alkanethiol Densified Hybrid Monolayer", The 61st Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Nice, France, September, 30, 2010.
3. 吉岡恭子, 佐藤 縁ら「3次元ナノ相分離薄膜を利用したレクチンの高感度検出」、日本分析化学会第 59 年会、仙台、

2010 年 9 月 17 日.

4. 佐藤 縁, 吉岡恭子ら、「糖鎖含有ナノ相分離単分子膜表面を利用したガレクチンの検出」、第 59 回高分子討論会、札幌、2010 年 9 月 17 日。(依頼講演)
5. 佐藤 縁、「ソフトマテリアル・ナノ材料を利用した高感度分子認識」、(社)表面技術協会セミナー、東京、2009 年 5 月 28 日。(招待講演)

[図書] (計 3 件)

1. 佐藤 縁、化学同人、「新しい局面を迎えた 界面分子科学」日本化学会編 1 章 (座談会)、2011 年、総ページ数 220 ページ.
2. 佐藤 縁、丹羽 修 (分担執筆)、丸善株式会社、環境分析ガイドブック、電気化学分析法 4.3 章、2010 年、総ページ数 850 ページ.
3. 佐藤 縁、栗田僚二、丹羽 修 (分担執筆)、丸善株式会社、「ソフトマター」センサー (編者 高原淳、栗原和枝、前田瑞夫)、4.2 章、2009 年、総ページ数 288 ページ.

[産業財産権]

○出願状況 (計 8 件)

名称：タンパク質の高感度認識基板
発明者：佐藤 縁、村上悌一、吉岡恭子、丹羽修
権利者：産業技術総合研究所
種類：特許
番号：特願 2010-257711
出願年月日：2010 年 11 月 18 日
国内外の別：国内

名称：表面修飾シリコン基板
発明者：田中睦生、吉岡恭子、佐藤 縁、他
権利者：産業技術総合研究所
種類：特許
番号：特願 2010-189219
出願年月日：2010 年 8 月 26 日
国内外の別：国内

名称：生体関連物質計測デバイス、人工臓器用表面修飾材料
発明者：田中睦生、澤口隆博、佐藤 縁 他
権利者：産業技術総合研究所
種類：特許
番号：特願 2008-211376
出願年月日：2008 年 8 月 20 日
国内外の別：国内