

28V-am02

ポストインプリンティング修飾による蛍光標識分子インプリントタンパク質認識空間の構築

○砂山 博文¹, 竹内 俊文¹ (¹神戸大院工)

【目的】分子インプリンティングは標的分子と相互作用可能な機能性モノマーと架橋剤を標的分子存在下で共重合させ、その後標的分子を洗い出すことによって有機高分子内に標的分子に対して相補的に、相互作用する官能基が配置された結合空間(インプリント空間)を構築する手法である。本研究では予め機能性モノマーに後から化学修飾可能な官能基を導入しておき、インプリント空間構築後に化学修飾を行うことで構築した結合空間の機能の変換・付与を行う、ポストインプリンティング修飾(PIM) [*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, 53, 12765]により、蛍光標識分子インプリントタンパク質認識空間の構築を行う。

【方法】本研究ではその構造内にジスルフィド結合を有する機能性モノマーを設計・合成した。Lsozyme(Lyso)を標的タンパク質とし、合成したモノマー及び架橋剤を用いて、ガラス基板にてインプリンティングを行った。PIMとして還元剤によるジスルフィド結合の開裂及び、aminoethylpyridyldisulfide (APDS)による再構築、更に FITC による蛍光分子の導入を行い、得られた蛍光標識分子インプリントタンパク質認識材料の評価を蛍光測定により行った。

【結果・考察】合成したポリマーの還元剤によるジスルフィド結合の開裂及び、APDS による再構築、蛍光導入の操作を繰り返し、各ステップにおいて蛍光測定を行ったところ蛍光強度の大きな変化が観察されたことから蛍光分子はジスルフィド結合を介して導入されていることが確認された。また、Lyso を添加すると蛍光が濃度依存的に変化し、他のタンパク質に対しては大きな変化を示さなかったことから、Lyso 選択的結合イベントを蛍光変化で読み出せることが示された。