

26R-am07

マイクロデバイス中の単一酵素活性検出による病態診断法の開発

○坂本 眞伍¹, 小松 徹^{1,5}, 渡邊 力也^{4,5}, 張 翼⁴, 野地 博行⁴, 浦野 泰照^{1,2,3} (¹東大院薬,
²東大院医, ³AMED CREST, ⁴東大院工, ⁵JST PRESTO)

【目的】

血中で観察される酵素活性は、特定の病気と関連して異常値を示すものが数多く知られており、これらの活性の測定は病態の診断に用いられている。その代表的な例がアルカリホスファターゼ (ALP) であるが、ALP は血中に異なる臓器に由来する複数のアイソザイムが存在し、正確な病態診断のためにはこれらを分離して検出する必要がある。現在この目的に用いられる電気泳動法はスループットが低く、マイナーポピュレーションの酵素の検出には不向きであることから、本研究では、マルチウェルチャンバー型のマイクロデバイスを用いた 1 分子計測の手法に則り、それぞれのアイソザイムを分離して検出することを可能とする新規の酵素活性評価法の開発を行った。

【方法・結果】

酵素反応による蛍光の増大によってその活性を可視化する activatable 型ホスファターゼプローブを用い、1 酵素当たりの活性の差異を利用してアイソザイムを分離し検出する方法を考案した。具体的には、異なる蛍光波長を持ち、マイクロデバイスへの適合性が高いホスファターゼ蛍光プローブを複数開発し、これを用いてヒト血清中 ALP 活性を 1 分子計測することを達成し、さらに混合した異なる種類のホスファターゼを 1 分子ごとに判別し、検出することに成功した。