

# 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) FS ステージ (シーズ顕在化) 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者) : システム・インスツルメンツ (株)

研究責任者 : 神戸大学 竹内 俊文

研究開発課題名 : 窒素フリー人工高分子レセプターを用いるプロテインチップ質量分析システムの開発

## 1. 研究開発の目的

本研究では、抗体を利用しないプロテインチップ構築を目的として、タンパク質インプリント人工高分子レセプター材料による分子認識薄膜基板の調製法を開発し、基板上に特異的に吸着したタンパク質を質量分析によって定量する解析法の構築を目標とする。用いる素材はすべて窒素フリーとし、非特異的結合および質量分析時の夾雑ピークの低減をはかる。質量分析特有のタンパク質の同定と微量定量を可能とする条件を見出し、定量ソフトウェアの開発を推進する。抗体ではなく調製の容易な人工材料を用いる特徴を最大限生かすことにより、将来的には、タンパク質のみならず、糖類や脂質類など、現在バイオマーカーとして有力視されている生体成分の検出も視野に入れ、多検体異種バイオマーカー同時定量のための安価な高感度定量サービスに展開する。

## 2. 研究開発の概要

### ①成果

#### 【目標】

人工高分子レセプター薄膜を作製法を確立し、MALDI-TOF/MS によって nmol オーダーの標的タンパク質の検出を可能とする測定・解析法を構築する。

#### 【実施内容】

窒素フリーの二糖からなる親水性架橋剤を利用したタンパク質インプリント薄膜作製を行った。吸着タンパク質を検出可能なマトリックス混合比率を検討し、さらに、MALDI-TOF/MS 用プレートの設計と加工と、主成分分析によるタンパク質吸着パターンの多変量解析を行った。

#### 【達成度】

リビングラジカル重合法による 20nm 以下の膜厚制御が可能となった。1 スポットあたり 10pmol のタンパク質を多変量解析によりパターン解析可能となった。さらなる選択的認識能の付与を目指すため、達成度は 95% と判断した。

### ②今後の展開

本研究を通じて、人工高分子レセプターをドット上に再現性よくマイクロアレイ化する技術は極めて重要であると判断した。このことから、マイクロアレイ基板作製技術の開発に焦点を置き、人工レセプターマイクロアレイ作製の開発研究を進める。

## 3. 総合所見

一定の成果は得られた。金基板上に膜厚 20nm 以下の人工高分子レセプター薄膜を作製し、10pmol オーダーで標的タンパク質の検出を可能とした。しかしながら、得られた検量線は定量をするには不十分である。将来性はあるため、今後の産学連携による基礎研究の詰りを期待する。