

- 1050 表面プラズモン共鳴を用いたペプチドリガンドによるポルフィリン類の検出
(東和科学(株)、*工技院・融合研、**甲南大・理) ○犬山康弘、中村 史*、
白井勝久、杉本直己**、三宅 淳*

【目的】 環境ホルモンは、低分子量であり、極微量で作用するという特徴を有する。環境ホルモン等の有害物質の迅速、高感度な検出法の開発が望まれる。本研究では、表面プラズモン共鳴 (SPR) を用いた低分子物質の高感度検出システムを構築することを目的とした。このシステムのモデルとして、ターゲットにポルフィリンの一種である 5,10,15,20-Tetrakis(N-methylpyridinium-4-yl)-21H,23H-porphine (H_2TMpyP)、リガンドに H_2TMpyP を特異的に認識する6残基のペプチド、PSP2 (HASYSYSC) を用いた。

【方法及び結果】 センサーチップにPSP2を固定化した後、チップの表面に H_2TMpyP 溶液を注入し、BIACORE X (ピアコア社) を用いてSPRシグナルの変化を測定した。この結果、数十 ng/ml ~ 数 μ g/ml の濃度範囲において、 H_2TMpyP を定量的に検出することが出来た。また、コントロールとして、プロトポルフィリンIVを用いた場合には、SPRシグナルの変化はほとんど見られなかったことから、 H_2TMpyP の特異的な検出が示された。さらに、数種類のポルフィリンを用いた検出試験の結果、特定の構造のポルフィリンのみが検出され、ペプチドの持つ分子識別能が示された。

Detection of porphyrin derivatives by peptide ligand using surface plasmon resonance.

○Yasuhiro Inuyama, Chikashi Nakamura*, Katsuhisa Shirai, Naoki Sugimoto**, Jun Miyake* (TOWA KAGAKU Co.,LTD., *NAIR/AIST, **Konan Univ. Faculty of Science)

【Key words】 surface plasmon resonance, porphyrin, peptide

- 1051 光合成反応中心タンパク質を用いたアトラジンセンサーの開発
(工技院・融合研、茨城大農*)
○中村 史、島田和美*、長谷川みき、白井 誠*、三宅 淳

【目的】 植物の光合成系のキノン結合サイトに結合し、光合成阻害を起こすトリアジン系除草剤は、発ガン性や環境ホルモンとしての性質が指摘され、世界的に使用が制限されつつある化合物である。本研究ではこの阻害機構に着目し、光合成反応中心 (RC) そのものを用いるバイオセンサーを開発することを目的とした。除草剤にはトリアジン系除草剤の一種であるアトラジンを用い、RCには遺伝子組み換え技術の確立している光合成細菌のRCを用いた。アトラジンとRCの相互作用を検出するデバイスには、表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定装置を用いた。

【方法及び結果】 光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* 由来のRCに遺伝子組み換えによってヒスチジンタグを付与したもの (His-RC) をアトラジン検出のリガンドとして用いた。SPRの測定には、BIACORE (X-2000, BIACORE Co Ltd.) を用い、センサーチップには、Ni-NTAセンサーチップを用いた。チップ上にHis-RCを配位結合させ、アトラジン検出チップとした。50 mM NaClおよび0.5 % (w/v) triton X-100を含む50 mMリン酸緩衝液 (pH8.0) をランニング緩衝液として使用し、アトラジンは、5 % (v/v) メタノールを含む同緩衝液に溶解したものを使用した。測定の結果、His-RCとアトラジンとの結合を表すSPRシグナルは濃度依存的な増加を示し、ppbオーダーの低濃度領域において良い相関を示した。His-RCを用いることで、トリアジン系除草剤を直接、高感度に検出することが可能であることが示された。

Development of atrazine sensor using photoreaction center

○Chikashi Nakamura, Kazumi Shimada*, Miki Hasegawa, Makoto Shirai*, Jun Miyake(NAIR/AIST, *Ibaraki Univ.)

【Key words】 Photosynthetic reaction center, Self-assembly, Surface plasmon resonance, Herbicide sensor, Liposome chromatography