

インスリン検出用バイオセンシング分子を用いた ポータブルバイオアッセイの開発

○重松怜志・石田文典・池田文・廣田隆一・黒田章夫・舟橋久景（広島大学）

Development of a portable bioassay utilizing the biosensing molecule for insulin (Hiroshima University)
SHIGEMATSU, Reiji; ISHIDA, Takenori; IKEDA, Takeshi; HIROTA, Ryuichi; KURODA, Akio; FUNABASHI, Hisakage

当研究室では、標的を認識した場合のみシグナルを発生するバイオセンシング分子を開発している。このバイオセンシング分子を用いると洗浄操作が必要ないホモジニアスアッセイが可能であることから、簡便なポータブルアッセイ法開発への応用が期待される。本研究では、当研究室で開発したインスリン検出用バイオセンシング分子である NaLY をモデルとして、発光型のポータブルバイオアッセイ法開発の可能性を検討した。NaLY は、発光タンパク質 Nluc、インスリン認識部位である α CT と L1、蛍光タンパク質 Ypet によって構成される^{(1), (2)}。インスリンを認識した場合のみ Nluc と Ypet が近接し、Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET) シグナルを発生する (Figure 1)。このシグナルをスマートフォンなどで撮影・解析できれば、新しいポータブルバイオアッセイのプラットフォームとして応用、発展が期待される。

まず、濾紙上で BRET 反応が正常に進行し、それをスマートフォンで撮影可能かどうか検討した。NaLY、インスリン、発光基質を混合し、濾紙に滴下した。暗箱中で濾紙を撮影し、画像解析ソフト Fiji[®]を用いて解析した。写真を R、G、B に分割し、BRET 強度を疑似的に評価した。その結果、濾紙上でも BRET 反応が進行し、写真から BRET 強度がイメージとして評価可能であることが示された。そこで、発光基質をあらかじめ染みこませた濾紙に、NaLY とインスリンの混合溶液を滴下し、撮影・解析を行ったところ、インスリン濃度を反映した BRET 強度イメージが得られた (Figure 2)。また、NaLY とインスリンを濾紙に添加した後に発光基質をスプレーした場合でもインスリン濃度を反映した BRET 強度イメージが取得された。これらの結果より、BRET シグナル発生型バイオセンシング分子とスマートフォンのカメラ機能を用いた新しいポータブルバイオアッセイが開発可能であると示された。

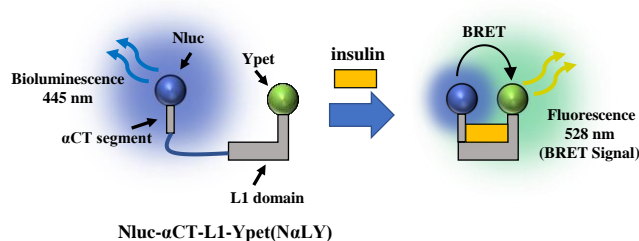


Figure 1. The BRET-based biosensing molecule for insulin.

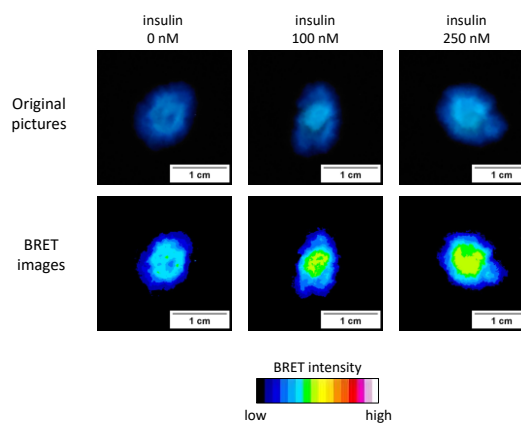


Figure 2. Original pictures taken with a smartphone camera and BRET images analyzed by Fiji.

- 1) Shigeto, H, *et. al.*, *Analytical chemistry*, **87**, 2764-2760 (2015)
- 2) Shigeto, H, *et. al.*, *Analyst*, **144**, 3765-3772(2019)
- 3) Schindelin, J, *et. al.*, *Nature methods*, **9**, 676-682, (2012)