

## 標的反応性 DNA プローブのビーズ集積を利用した多成分生体分子解析手法の開発

(青山学院大理工) ○菅原 正人・西原 達哉・田邊 一仁

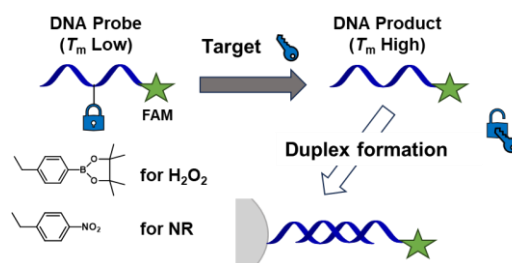
Design of molecular system for multiplex biomolecular analysis using bead accumulation of target-reactive DNA probes (*College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University*)

○Masato Sugawara, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

Multiplex biomolecular analysis is useful methodology for disease diagnosis. However, fluorescent molecular probes have significant limitations for the multiplex biomolecular analysis due to overlapping of fluorescence wavelength. To overcome these limitations, we have designed a molecular system using the target-reactive DNA probes and complementally DNA-labeled beads. Upon the reaction with target molecules, the product of DNA probes (product DNA) forms the duplex on the beads in the sequence dependent manner. After the accumulation, we can quantify the product DNA by monitoring the fluorescence signals from each bead to achieve the multiplex biomolecular analysis. To demonstrate the feasibility of this strategy, we designed the target responsive DNA probes for  $\text{H}_2\text{O}_2$  and nitroreductase (NR). We succeeded in their detection by monitoring fluorescence of the product DNA.

**Keywords :** DNA encoding; Multiplex analysis

生体試料中の疾患関連生体分子の量は大きく変動することが知られている。そのため、生体分子解析は疾患診断に非常に有用な方法論である。生体分子検出にあたり、蛍光分子プローブは大変有用な方法論であるものの、蛍光スペクトルが重なるため、同時に解析可能な分子の種類は 4~6 個が限界である。そこで本研究では、複数種類の生体分子の同時分析を実現する方法論の構築に取り組んだ。具体的には、蛍光標識した DNA のリン酸部位に対して、標的分子に対する反応点を導入したプローブを用いた分子システムを検討した。具体的なシステムを Figure 1 に示す。標的分子として、主要な活性酸素種の一つである過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )、がん関連酵素であるニトロレダクターゼ (NR) を選択し、標的との反応に伴い反応点が脱離するよう設計した。反応した DNA は、二重鎖形成を惹起し得る。実際に  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、および NR に対する反応点として、それぞれフェニルボロン酸、ニトロベンジル基を選択し、リン酸部位に導入した。各標的との反応を実施したところ、いずれの場合も、反応生成物となる DNA 鎖は二重鎖解離温度が上昇した。さらに、反応溶液と相補鎖 DNA を標識したビーズを混和したところ、標的分子存在下でビーズからの蛍光が観察された。すなわち、標的分子を検出できた。



**Figure 1.** Strategy for the multiplex biomolecular detection in this study.