

19a-E17-5

100MHz 帯リポソーム-タンパク質間相互作用の誘電分散解析

Evaluation of Interaction between Liposome and Protein by Dielectric Dispersion Analysis

in 100 M-1000 MHz Range

京工繊大工芸 ○吉川 知貴, 高田 佳祐, 張 子洋, 山下 馨, 野田 実

Kyoto Inst. Tech., ○T. Yoshikawa, K. Takada, Z. Zhang, K. Yamashita, M. Noda

E-mail: b0121062@edu.kit.ac.jp

【はじめに】従来バイオ分子、特にタンパク質の誘電分散解析(Dielectric Dispersion Analysis: DDA)はタンパク質高分子自体の動的挙動の多くが 10 MHz オーダー以下であるため、約 100 MHz まで測定可能なインピーダンス法により主に評価されてきた。同周波数以上の高周波領域では主に S パラメータ法が用いられている。その際一般的な水溶液中では水和水現象を伴う場合が多く、少なからず高周波側のいくつかの誘電緩和現象は水和水分子動性に同定されている。我々はこれまでタンパク質等の生体分子と相互作用を生じる特徴を有するナノ球状超分子リポソーム(人工細胞膜)をバイオセンシング(認識)分子として用い各種バイオセンサ、あるいはバイオセンシング手法の検討、開発を行っている。現在まで S パラメータ法による DDA の評価結果として、各種タンパク質の存在、濃度また動的挙動変化の検出マーカーとしてリポソーム表面の水和水状態が有効であることを明らかにしてきた[1]。今回、バイオ認識分子として用いるリポソームは脂質分子でタンパク質より低分子であり脂質分子自体の動性に基づく誘電緩和周波数の一種が数 10—数 100 MHz である報告が幾つか有るため[2]、本報告では開口プローブ法による S パラメータ法での測定精度(データ密度)を向上し、100 MHz オーダーの誘電率スペクトルを従来の S パラメータ法による他報告よりさらに細かく計測した。

【実験内容・結果】本実験には DPPC(1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine)リポソームを使用し、対象タンパク質には従前 DDA 評価の報告があるリゾチーム(lysozyme)を用いた。まず DPPC リポソーム溶液(30 mM)自体の誘電分散特性を Fig.1 に示す[1]。結合水の緩和はそれぞれ 1 GHz 付近、2~5 GHz 付近で確認されると報告されているが[3,4]、2~5 GHz での緩和が 2 種類あることを検出している[1]。自由水の緩和は高周波側(20 数 GHz)にあるため、本結果は結合水の結合の形態の違いによって複数化している事を示唆している。今回 Fig.1 の領域 I の低周波領域を上述の通り測定した。本開口プローブ法では約 50 MHz が測定限界でノイズ低減困難となるため測定下限は 100 MHz とした。100 MHz 幅当り測定数は 2 MHz 間隔 50 回で、それを平均化処理した。Fig.2 に本法で測定した DPPC リポソーム 20 mM、DPPC リポソーム 20 mM+リゾチーム 10 μ M、超純水の 3 者の誘電分散スペクトルを示す。従来他者報告の誘電率測定スケールと比べ 1 桁は細かく、小さな誘電緩和を検出できている。純水は通常約 80 の比誘電率を有し、またこの周波数範囲では特段の誘電緩和は見られず 20 GHz 以上の自由水緩和に向かっている。DPPC リポソーム単体では誘電率が上昇すると共に 100-500 MHz での誘電緩和が見られるが脂質親水基の回転運動、あるいは上記結合水構造の変化に対応すると思われる[5]。これにリゾチームを添加すると同誘電緩和の誘電緩和幅 $\Delta\epsilon$ は 0.10 から 0.08 に低減しており、リポソームとリゾチームの相互作用に基づく変化が発現していると考えられる。

【参考文献】 [1] 高田 他 2012 年春季 第 59 回応用物理学関係連合講演会 16a-F1-4 [2] Seiichi Morita *et al.*, J Biosci Bioeng Vol. 95, No.3, 252 (2003) [3] 増田 他 2008 年春季 第 55 回応用物理学関係連合講演会 30p-ZL-4 [4] 増田 他 2009 年秋季 第 70 回応用物理学会学術講演会 9a-ZL-4 [5] Siano, S.A. *et al.*, Biotechnol. Bioeng., 55, 289-304 (1997)

本研究の一部は科研基盤 A(一般) 20294168 の助成を受けて行われた。

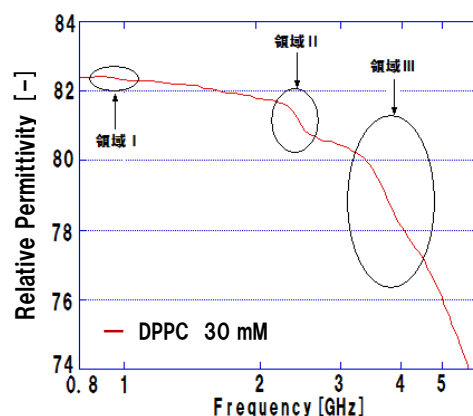


Fig. 1 Dielectric Dispersion Spectrum of DPPC liposome [1]

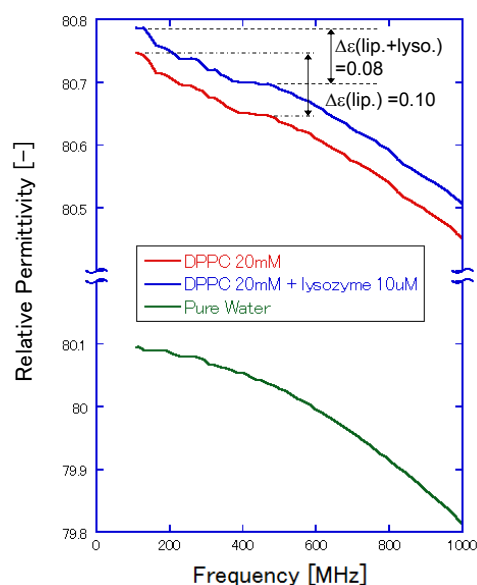


Fig. 2 Comparison of Dielectric Dispersion among DPPC liposome, DPPC liposome + lysozyme and pure water, respectively.