

フォトリック結晶ナノレーザセンサアレイによる アルツハイマー病関連分子マーカの検出 (II)

Specific Detection of Marker Protein Related with Alzheimer's Disease Using Nanolaser Sensor Array Based on Photonic Crystal (II)

横浜市大院医¹, 横国大院工²

磯野 俊成^{1,2}, 羽中田 祥司², 渡邊 敬介², 山下 直也¹, 五嶋 良郎¹, 馬場 俊彦²

Yokohama City Univ., Grad. Sch. Med.¹, Yokohama National Univ., Grad. Sch. Eng.²

T. Isono^{1,2}, S. Hachuda², K. Watanabe², N. Yamashita¹, Y. Goshima¹, T. Baba²

E-mail: toshinari-isono@umin.ac.jp

アルツハイマー病は脳へのアミロイドベータタンパク質の沈着に特徴づけられる進行性の神経変性疾患であり、社会問題となっている認知症の原因の一つである。アルツハイマー病の予防や進行を遅らせるためにはより早期に診断する必要があるが、そのためにはアルツハイマー病に特異的なバイオマーカを低侵襲に検出することが求められている。アルツハイマー病脳において、リン酸化型 Collapsin Response Mediator Protein 2 (CRMP2)の蓄積が報告されている[1]。CRMP2のリン酸化はアミロイドベータによる神経毒性の発現に必須であることから CRMP2 は新たなバイオマーカとして注目が集まっている[2]。これまで、我々は屈折率変化等を発振波長の変化として高感度に検出することができるナノレーザセンサに抗 CRMP2 抗体を固定したバイオセンサを用いて、高感度で選択的な CRMP2 の検出を試みてきた[3]。本研究では、測定する溶液環境を調整することで CRMP2 の捕捉によるナノレーザの波長シフトを約 4 倍増大させることに成功した。

HEK293T 細胞に CRMP2 を強制発現させ、細胞を破砕することで CRMP2 を含む細胞破砕液を得た。CRMP2 の濃度調整のため、細胞破砕液をリン酸緩衝溶液(PBS)、3 分の 1 の塩濃度に希釈した PBS(1/3-PBS)、純水でそれぞれ希釈したサンプルを用いた。塩による浸食を防ぐため、ナノレーザ表面に原子層堆積法で ZrO₂ を堆積させた後、抗 CRMP2 抗体を固定した。続いて、非特異吸着を抑制するため、ウシ血清アルブミンを用いてブロッキング処理した。その後、三種の溶液で濃度調整した CRMP2 溶液にナノレーザを浸漬させた。このときの波長シフトを図 1 に示す。純水、1/3-PBS で濃度調整した細胞破砕液中で、10 pM 以上の CRMP2 濃度において明瞭な長波長シフトが観察された。一方、PBS を用いて濃度調整したサンプルでは明瞭な波長シフトを得ることができなかった。また、1/3-PBS で濃度調整したサンプルでは、純水を用いたものに比べて約 4 倍の大きな波長シフトが観察された。高塩濃度溶液中では電気二重層の形成によりレーザ表面近傍の塩濃度が上昇し、溶液の実効屈折率が増大することから、CRMP2 捕捉による正味の屈折率変化が小さくなり、感度が低下してしまうと考えられる。タンパク質の変性を抑えつつ大きなシグナルを得るためには、光学センサにおいても測定溶液条件が重要であることが明らかとなった。

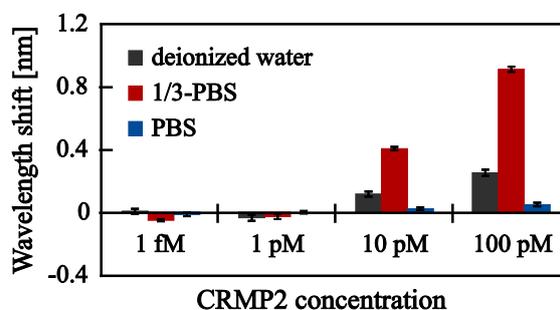


Fig. 1 Wavelength shift after CRMP2 adsorption on antibody-immobilized nanolaser sensors in three different solutions.

[1] H. Yoshida et al., J. Biol. Chem. 1998, 273, 9761. [2] T. Isono et al., Neurosci. Res. 2013, 77, 180. [3] 磯野ら、秋季応物(2013) 16p-C6-8.