

主成分分析を用いた蛍光封入リポソームアレイセンサによる ターゲットタンパク質の識別

Discrimination of Target Proteins using Array Sensor with Liposome Encapsulating Fluorescent Molecules by Principal Component Analysis

○今村 亮太¹、張 子洋¹、島内 寿徳²、村田 直樹¹、山下 馨¹、福澤 理行¹、野田 実¹

(1. 京都工芸繊維大、2. 岡山大)

○Ryota Imamura¹, Ziyang Zhang¹, Toshinori Shimanouchi², Naoki Murata¹, Kaoru Yamashita¹, Masayuki Fukuzawa¹, Minoru Noda¹ (1.Kyoto Institute of Technology., 2.Okayama University.)
E-mail: m5621003@edu.kit.ac.jp

【はじめに】 今回、前回[1]に引き続きターゲットとなるタンパク質の種類・濃度を識別することを主な目的として、蛍光分子封入リポソームをバイオセンサ素子として用いた蛍光アレイセンサによる計測、解析を行った。リポソームとターゲットタンパク質が相互作用をすることでリポソームの流動性が変化し、リポソーム内水相から蛍光分子が漏出する。セル毎にリポソームから漏出する蛍光分子の蛍光強度を計測し、上記相互作用の検出を行う。微量サンプルを用いる多検体測定を、アレイを用いて行うため、大量のデータの効率的解析が必要となる。そこで、このような用途に合う統計解析として主成分分析を行った。主成分分析は多くの特性を持つ多変量のデータを互いに相関の無い、少ない個数の特性値にまとめる手法であり、特性値の個数を減らすことでデータの持つ本質的な特徴の見通しを良くするための手法[2]とされるからである。

【実験内容と結果】 本実験には DPPC(1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine), DSPC(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine), コレステロール含有 DPPC(DPPC : Cholesterol = 66 mol% : 33 mol%)の3種類のリポソームを、ターゲットタンパク質は従来から利用している CAB(Carbonic anhydrase from bovine)とリゾチームを用いた[1]。コレステロールは生体膜に含まれる脂質の一種であり、コレステロールが脂質膜に含有されることでリポソームの流動性が変化することが知られている[3][4]。700 μm×700 μmのセルを3×3で構成したPDMSアレイにターゲットタンパク質を添加した種々脂質膜リポソーム溶液を各セルに0.7 μL導入し、蒸発防止用にアレイ上にカバーガラスを形成し、測定系[1]に設置した。励起光をアレイに照射してCMOSイメージャでリポソームから漏出した蛍光分子が放出する蛍光をアレイ全体で同時撮像し、セル毎の蛍光強度特性を測定し、相対蛍光強度(RF)を求めた。相対蛍光強度は $RF = \Delta I / I_0 = (I - I_0) / I_0$ (I: 測定開始後のある時刻の蛍光強度, I_0 : 測定開始時の蛍光強度)の式で計算した。今回リポソームの濃度は10 mM, ターゲットタンパク質の濃度はCABが30, 100, 300, 500 μM, リゾチームが70, 300, 500, 700 μMとした。測定開始から60分経過時の相対蛍光強度の平均値を主成分分析した。DPPC, DSPCにおける相対蛍光強度を図1に、主成分分析により得られた分析結果を図2に示す。これは得られた主成分(PC1~PC3)においてターゲットタンパク質濃度に対応した主成分得点を示している。これよりタンパク質種、濃度毎に分かれており、またタンパク質無添加時(water)においてもタンパク質の点と分かれていることから、本測定系においてターゲットタンパク質種・濃度の識別が出来ることが示唆された。

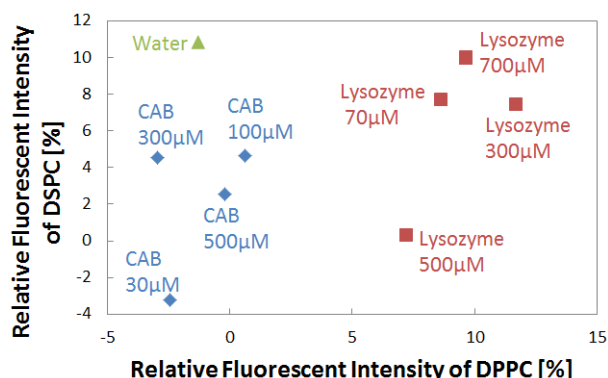


Fig.1. Scatter plots of relative fluorescent intensity of DPPC and DSPC.

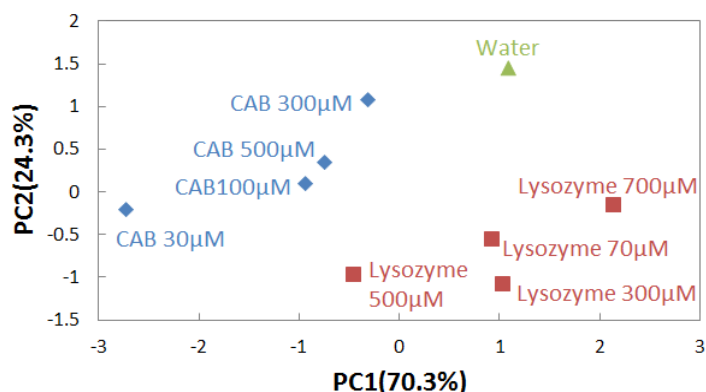


Fig.2. Score plots from principal component analysis of relative fluorescent intensity.

謝辞：本研究の一部は科研基盤 A(一般)25249048, 挑戦的萌芽研究 26630157 の助成を受けて行われた。

参考文献

- [1] 今村亮太 他 2015 年春期応用物理学会春季学術講演会 13p-D6-1.
- [2] 芳賀敏郎, 橋本茂司: “回帰分析と主成分分析”, 161-164, 株式会社日科技連出版所, 第1刷(1980).
- [3] 好村滋行, 今井正幸: “生体膜における不均一構造の物理”, 日本物理学会誌 Vol.68, No.11(2013)
- [4] 好村滋行, 白鳥久志: “生体膜の相転移と相分離”, 日本物理学会誌 Vol.60, No.2(2005)