

コレステロール含有リポソームによる カンチレバーバイオセンサの A β 検出感度の向上 Improvement of A β Detection Sensitivity of Cantilever Biosensor by Containing Cholesterol in Liposome

京都工芸繊維大学¹, 新潟大学²

○村上 祐樹¹, 張 子洋¹, 谷口 智哉¹, 寒川 雅之², 山下 馨¹, 野田 実¹

Kyoto Inst. Tech.¹, Niigata Univ.² Y. Murakami¹, Z. Zhang¹, T. Taniguchi¹,

M. Sohgawa², K. Yamashita¹, M. Noda¹

E-mail: m5621038@edu.kit.ac.jp

【はじめに】

アルツハイマー病(AD)の発症原因として、アミロイド β (A β) タンパク質が凝集して脳神経細胞に沈着・蓄積することが考えられている[1]。我々は A β を検出するセンサとして、SAM で修飾したカンチレバー表面にリポソームをバイオセンシング分子として固定化した A β 検出用カンチレバーバイオセンサを開発した[2]。A β とリポソームの相互作用によるカンチレバーの撓みを NiCr 歪ゲージの抵抗変化から検出できる。近年我々は同センサの検出感度を高めるための改良を進めている。コレステロールは A β の凝集過程を促進し、脂質膜と A β との相互作用を増強するという報告がある[3]。そこでバイオセンシング分子である DPPC リポソームにコレステロールを含有させ、脂質膜と A β との相互作用を強めることでカンチレバーバイオセンサの感度向上を試みた。今回、AD 患者血液中の A β 濃度である 10 nM オーダーの低濃度 A β の検出を目標とした。

【実験内容と結果】

以前報告した PDMS 液滴保持構造付きリポソーム固定 NiCr 歪ゲージカンチレバーセンサ[4]において、DPPC リポソームとコレステロール(33 at%)含有 DPPC リポソームのそれぞれをカンチレバー表面に固定化したデバイスを作製した。検出対象として 0.1 wt% のアンモニア水で調製した 10 μ M の A β (1-40)溶液を約 10 μ L 液滴保持構造に入れた後、封止して経時測定を行った。各種リポソームを固定化したカンチレバーの抵抗変化率の経時変化を Fig.1 に示す。Fig.1 から抵抗が上昇し始める時間はコレステロール含有 DPPC リポソームのほうが早く、また抵抗最大変化率もコレステロール含有 DPPC のほうが高いことがわかった。この結果から、コレステロールによって A β (1-40)の凝集化過程が促進され、さらに A β (1-40)と脂質膜との相互作用が増強されることを確認できた。

次にコレステロール含有 DPPC リポソームを固定化したカンチレバーを用いて低濃度 A β (1-40)溶液中での測定を行った。各濃度の A β (1-40)溶液中での抵抗の経時変化を Fig.2 に示す。Fig.2 からリポソームと A β (1-40)の相互作用の強度は A β (1-40)濃度に依存することが分かった。特に今回、50 nM という低濃度の A β (1-40)を検出できることが確認でき、AD 患者血中濃度 100 nM 未満の検出可能性が示唆された。

(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]Oliver Wirths *et al.*:Journal of Neurochemistry, 2004, 91, 513–520 [2]張子洋 他:2015 春応物 13a-D6-10.
[3]Katsumi Matsuzaki.: Biochimica et Biophysica Acta 1768 (2007) 1935–1942. [4]張子洋 他:2014 秋応物 20p-A2-5.

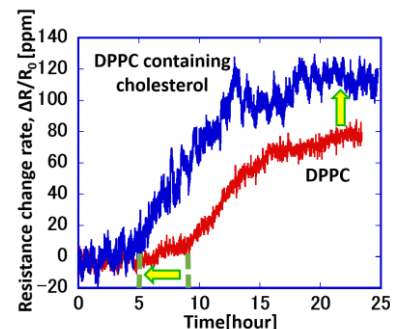


Fig.1: Resistance change rate of cantilever immobilized with DPPC liposome containing cholesterol or DPPC liposome in A β (1-40) solution.

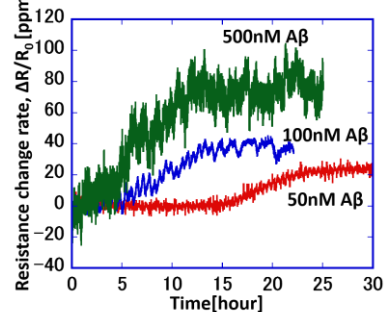


Fig.2: Resistance change rate of cantilever immobilized with DPPC liposome containing cholesterol in A β (1-40) solution as a parameter of concentration.