

水晶振動子マイクロバランス法によるリポソーム-A β (1-40)間 相互作用のコレステロール濃度依存性の評価

Investigation of Dependence of Cholesterol Concentration on Interaction between Liposomes and A β (1-40) by Quartz Crystal Microbalance

京工繊大¹ ○谷口 智哉¹, 川崎 雅大¹, 山下 馨¹, 野田 実¹

Kyoto Inst. Tech.¹ ○Tomoya Taniguchi¹, Masahiro Kawasaki¹, Kaoru Yamashita¹, Minoru Noda¹

E-mail: m6621026@edu.kit.ac.jp

【はじめに】

我々は簡易かつ低コストでアルツハイマー病 (AD) バイオマーカー分子とされるアミロイド β タンパク質 (A β) を検出する手法として、センシングバイオ分子に生体モデル膜リポソームを用いたリポソーム固定化 NiCr 歪みゲージカンチレバーセンサの開発を行ってきた[1]。さらに従前よりリポソームにコレステロールを含有させることで、本センサの A β 検出感度向上が可能であり、コレステロール含有リポソームをセンシング分子として用いることで、10 nM オーダーの検出が可能であることを報告している[2]。しかしコレステロール含有濃度の違いが、A β とリポソームの相互作用にどのような影響を及ぼし、そして本センサの A β 検出感度向上につながるかはまだ不明である。そこで本研究では、水晶振動子マイクロバランス法 (QCM) を用いて、A β とリポソームの相互作用のコレステロール濃度依存性を評価し、最適なコレステロール含有濃度を定め、本センサの感度向上につなげることを目的とした。

【実験内容と結果】

今回センシングバイオ分子として、10 mol%と 33 mol%コレステロールをそれぞれ含有させ、凍結融解法によりコレステロール含有 DPPC リポソームを調製した。水晶振動子上の金電極上に、自己組織化単分子膜 (SAM) を形成し、水晶振動子に各リポソームを固定化した。ターゲットには A β (1-40)を選定し、未凝集の A β (1-40)粉末を 0.1 %アンモニア水で溶解し、ターゲット溶液を調製した。Fig. 1 にリポソーム固定化 QCM センサの概略図を示す。調製した A β (1-40)溶液を注入し、コレステロール含有 DPPC リポソームと A β (1-40)の相互作用のコレステロール含有濃度性の評価を行った。

Fig. 2 に 10 mol%、33 mol%コレステロール含有 DPPC リポソーム固定化 QCM センサの A β (1-40)溶液注入後周波数変化を示す。A β (1-40)注入後 10 mol%、33 mol%ともに周波数の減少が見られるが、周波数変化の速さは 33 mol%の方が大きい。コレステロール含有濃度を増やすことで、DPPC リポソーム A β (1-40)の相互作用が増大したと考えられる。膜のコレステロール含有濃度 30 mol%を境に、A β (1-40)が膜に侵入する力が増加すると報告されており[3]、より高濃度で上記の周波数変化速度が増加したと考えられる。さらにリポソーム-A β 間相互作用のコレステロール含有濃度依存性を測定し、同結果をリポソーム固定化カンチレバーセンサへ適用、実用化に向けて A β 検出感度向上を目指す。

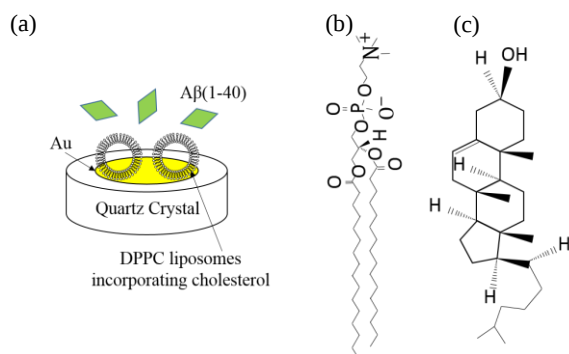


Fig. 1. (a) The illustration of QCM sensor immobilized with DPPC liposomes incorporating cholesterol. The molecular structure of (b) DPPC and (c) cholesterol.

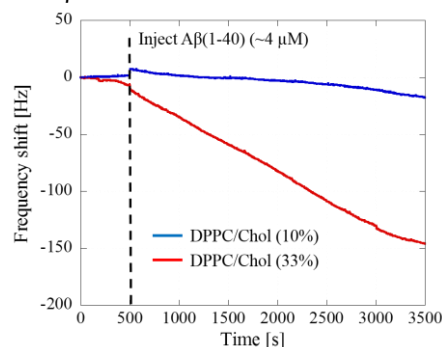


Fig. 2. Frequency shift of QCM sensor immobilized with DPPC liposomes incorporated with 10 mol% and 33 mol% cholesterol after adding A β (1-40) (~4 μ M).

(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] Z. Zhang et al., Sens. Actuators. B. Chem., 236, 1028 (2016).
- [2] 谷口智哉 他, 電気学会全国大会, 3-108 (2016).
- [3] S.-R. Ji et al., J. Biol. Chem., 277, 6273 (2002).