

AD 患者血清中におけるアミロイド β タンパク質検出に向けた リポソーム固定化カンチレバーバイオセンサにおける脂質種の検討 Investigation of phospholipids for detecting $A\beta$ in blood serum of AD patients by using cantilever biosensor immobilized with liposome.

京都工芸繊維大学¹, 新潟大学²

○谷口 智哉¹, 村上 祐樹¹, 西本 凌¹, 尾淵 浩也¹, 寒川 雅之², 山下 馨¹, 野田 実¹

Kyoto Inst. Tech.¹, Niigata Univ.²

○T. Taniguchi¹, Y. Murakami¹, R. Nishimoto¹, H. Obuchi¹,

M. Sohgawa², K. Yamashita¹, M. Noda¹

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

【はじめに】

アルツハイマー病(AD)が発症する原因として、アミロイド β タンパク質($A\beta$)が脳神経細胞膜上で凝集、線維伸長し、蓄積していく過程で脳神経細胞が破壊され、発症するという説が有力である [1]。我々は被験者の血中から $A\beta$ を検出できる MEMS 集積アレイ化用センサとして、SAM 修飾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 $A\beta$ 検出用カンチレバーバイオセンサを開発してきた[2]。 $A\beta$ とリポソームの相互作用で発生する表面ストレス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。今回、同センサを AD 患者の診断へと適応させていくために、ヒト血清中における $A\beta$ の検出を目的とした。

【実験内容と結果】

血清中における $A\beta$ を検出する際には、血清に含まれる他のタンパク質との相互作用が殆ど無く、 $A\beta$ に対する選択性が高い脂質種分子を選定することが重要である。今回、高感度に血清中 $A\beta$ を検出するために、新たに PBS 封入 DMPC/Cholesterol(33 at%)リポソームを調製し、カンチレバーに固定化後、血清を約 8 μ L 液滴保持構造に導入し、封止してカンチレバーの歪ゲージ抵抗の経時測定を行った。Fig. 1に測定開始から10時間後の抵抗変化率の結果を示す。同結果にて DMPC/Cholesterolリポソームと血清中タンパク質との相互作用は殆ど生じておらず、DPPCリポソームの場合とほぼ同様に 5 ppm程度の抵抗変化に留まっている。DPPCリポソームを用いた血清中 $A\beta$ 測定に以前成功していることから [3]、DMPC/Cholesterolリポソームでも同様に血清中 $A\beta$ を検出できる可能性が高いと推定できる。そこでDMPC/Cholesterolリポソームをカンチレバー上に固定化し、ヒト血清中 $A\beta$ (1-40)溶液(濃度1 μ M)を調製して液滴保持構造に導入し、経時測定を行った結果をFig. 2に示す。結果から測定開始から9-10時間まで200 ppm程度まで抵抗が上昇し、さらにその後、変化が大きくなり、測定開始から20時間後には700 ppm程度まで抵抗が上昇した。以上の結果から、従来のDPPCを用いた結果[3]よりも10倍程度の抵抗変化の上昇がみられた。また本センサを使用することにより、AD患者の血中濃度と同程度の $A\beta$ 濃度[4]を血清中から検出できる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] Z. Zhang, *et al.*: SENS ACTUATORS B, 2016, 236, 893-899. [4] A.M.W. Coppus, *et al.*: Neurobiol. Aging 33 (2012)1988-1994

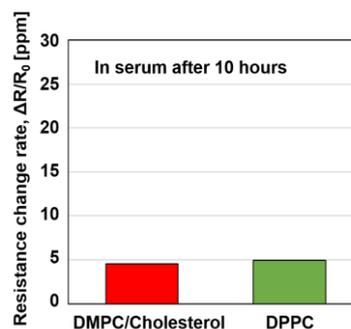


Fig. 1: Resistance change rate of the cantilever sensor immobilized with liposomes of DMPC/ cholesterol and DPPC in serum.

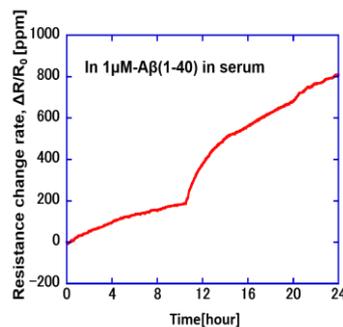


Fig. 2: Resistance change rate of the cantilever sensor immobilized with liposome of DMPC/cholesterol after adding 1 μ M $A\beta$ (1-40) in serum.